



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria

**Neosporosis en la ganadería pecuaria en el Perú**

**TESINA**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Gladys Annelisse RODRÍGUEZ ROMERO

**ASESOR**

Amanda Cristina CHÁVEZ VELÁSQUEZ

Lima, Perú

2009



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## **Referencia bibliográfica**

---

Rodríguez G. Neosporosis en la ganadería pecuaria en el Perú [Tesina]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Unidad de Posgrado; 2009.

---

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

*A mis papás, Gladys y Juan, por su gran capacidad de amar y por ser los mejores papás que pueden existir. Gracias por todo el apoyo que me han dado y por sus constantes enseñanzas.*

*A Marita y Alonso, mis personas favoritas, los mejores hermanos y amigos. Gracias por estar siempre a mi lado demostrando su amor.*

*A Kike, por enseñarme tantas cosas y por estar a mi lado apoyándome siempre. Gracias por ser tú.*

*A la Dra. Amanda Chavez por su constante apoyo y preocupación en la realización de este trabajo.*

*A mi familia y amigos, por su apoyo y cariño, por los muy buenos momentos que me dan.*

*Finalmente, a los “niños” que pasaron por mi vida y me inspiraron a seguir esta carrera. A Rocky, Duque, Tilsa, Gabo, Martín, Douglas....gracias.*

## CONTENIDO

	Pag.
AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS .....	ii
CONTENIDO .....	iii
LISTA DE CUADROS.. .....	v
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	2
2.1. <i>Neospora caninum</i> .....	2
2.1.1. Características morfológicas.....	2
2.1.2. Ciclo biológico .....	4
2.2. Epidemiología .....	5
2.2.1. Hospederos.....	7
2.2.1.1. Neosporosis en bovinos .....	7
2.2.1.2. Neosporosis en perros .....	8
2.2.1.3. Neosporosis en rumiantes menores.....	10
2.2.1.4. Neosporosis en humanos.....	11
2.2.1.5. Neosporosis en otras especies .....	11
2.2.2. Factores de riesgo.....	13
2.2.3. Impacto económico .....	18
2.3. Signos clínicos y lesiones .....	19
2.3.1. Signos clínicos .....	19
2.3.2. Lesiones .....	19
2.4. Patogenia.....	20
2.4.1. Infección exógena transplacental.....	20
2.4.2. Infección endógena transplacental .....	21
2.4.3. Patogenia en la placenta.....	21
2.4.4. Patogenia en el feto .....	22
2.5. Inmunidad .....	22
2.5.1. Inmunidad humoral .....	23
2.5.2. Inmunidad celular.....	23
2.6. Diagnóstico .....	24
2.6.1. Diagnóstico serológico .....	25
a. Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas.....	25

b.	Inmunoblot.....	26
c.	Aglutinación directa .....	26
d.	Inmunofluorescencia indirecta.....	26
e.	Prueba Rápida Inmunocromatográfica (ICT).....	27
2.6.2.	Diagnóstico no serológico .....	28
a.	Aislamiento del parásito .....	28
b.	Histopatología.....	29
c.	Inmunohistoquímica .....	29
d.	Reacción de la Cadena de Polimerasa (PCR) .....	30
III.	NEOSPOROSIS EN EL PERÚ: Revisión actualizada de los estudios realizados en nuestro país.....	31
3.1.	Evidencia serológica e identificación de <i>N. caninum</i> en bovinos y fetos abortados de bovinos del Perú.....	32
3.2.	Evidencia serológica de <i>N. caninum</i> en caninos del Perú .....	38
3.3.	Evidencia serológica e identificación de <i>N. caninum</i> en adultos y fetos abortados de Camélidos Sudamericanos del Perú .....	41
IV.	MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL.....	45
4.1.	Prevención y control .....	45
4.2.	Tratamiento.....	47
4.3.	Inmunoprofilaxis.....	48
4.4.	Situación actual de las medidas de prevención y control de <i>N. caninum</i> en el Perú .....	49
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
	BIBLIOGRAFÍA.....	52

## LISTA DE CUADROS

	<b>Pag.</b>
<b>Cuadro 1.</b> Reporte de aislamientos de <i>N. caninum</i> en ganado bovino.....	6
<b>Cuadro 2.</b> Reporte de aislamientos de <i>N. caninum</i> en perros .....	9
<b>Cuadro 3.</b> Pruebas de diagnóstico serológico comercialmente disponibles.....	28
<b>Cuadro 4.</b> Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en establos lecheros del Valle de Lima. ....	35
<b>Cuadro 5.</b> Número y porcentaje de vacas y crías seropositivas a anticuerpos anti <i>N. caninum</i> , mediante la prueba de ELISA, Cajamarca.....	35
<b>Cuadro 6.</b> Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en dos distritos de la provincia de Chachapoyas, Amazonas. ....	35
<b>Cuadro 7.</b> Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en bovinos criados al pastoreo en la provincia de Melgar, Puno. ....	36
<b>Cuadro 8.</b> Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en vacas de la comunidad de Corpacancha de la SAIS Pachacutec, Junín. ....	36
<b>Cuadro 9.</b> Porcentaje de vacas, vaquillonas y terneras seropositivas a <i>N. caninum</i> , mediante la prueba de ELISA, en Cajamarca. ....	37
<b>Cuadro 10.</b> Resumen de seroprevalencias de <i>N. caninum</i> en bovinos del Perú.....	37
<b>Cuadro 11.</b> Frecuencia de positividad a <i>N. caninum</i> en perros procedentes de establos lecheros del Valle de Lima.....	39
<b>Cuadro 12.</b> Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en caninos de dos distritos de la provincia de Chachapoyas, Amazonas.....	39
<b>Cuadro 13.</b> Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en caninos relacionados con establos lecheros del departamento de Junín.. ....	40

<b>Cuadro 14.</b> Frecuencia de <i>Neospora caninum</i> en perros pastores procedentes de cinco sectores de producción de la empresa Rural Alianza-Puno.....	40
<b>Cuadro 15.</b> Resumen de seroprevalencias de <i>N. caninum</i> en caninos del Perú.....	40
<b>Cuadro 16.</b> Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en llamas hembras de dos fundos ganaderos en la provincia de Melgar, Puno.....	43
<b>Cuadro 17.</b> Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en llamas hembras en edad reproductiva de la empresa ganadera SAIS Pachacutec, Junín.....	43
<b>Cuadro 18.</b> Resumen de seroprevalencias de <i>N. caninum</i> en Camélidos Sudamericanos Domésticos del Perú.....	44



## RESUMEN

*Neospora caninum*, es un parásito protozoo, perteneciente al phylum Apicomplexa, familia Sarcocystidae. Hasta la actualidad, ha sido notificado a nivel mundial como causante de abortos en el ganado bovino, ovino, caprino, equino y en caninos, en quienes pueden causar alteraciones nerviosas; además se ha reportado la existencia de anticuerpos contra *N. caninum* en una larga lista de animales domésticos y silvestres, entre otros. La presente revisión, enfoca los principales estudios realizados en el Perú, sobre la presencia de *N. caninum*, siendo la mayoría realizados en bovinos, camélidos sudamericanos y caninos. Además se exponen algunas consideraciones respecto a las medidas de prevención y control que podrían aplicarse en nuestro país. Sin embargo, hasta la actualidad no existe prevención ni control con un 100% de eficacia.

**Palabras claves:** *Neospora caninum*, prevalencia, bovinos, caninos, camélidos sudamericanos, prevención, control.

## ABSTRACT

*Neospora caninum*, is a protozoa parasite, that belongs to Apicomplexa phylum, Sarcocystidae family. At the moment, it has been notified to the world as a cause of abortions on cattle, sheep, goats, horses and dogs, where it can cause nervous disorders; there has been also reported the existence of antibodies against *N. caninum* in a lot of domestic and wild species, among others. There has been explained a lot of prevention and control measures; however nowadays there is not a 100% efficient prevention or control program. The present revision compiles information of the studies performed on cattle, dogs and South American Camelids on Peru and it appoints the lack of information existing in our media. .

**Key words:** *Neospora caninum*, prevalence, cattle, dogs, South American Camelids, prevention, control.

## I. INTRODUCCIÓN

*Neospora caninum*, es un protozoo intracelular, estrechamente relacionado con *Toxoplasma gondii*. Fue descrito por primera vez en 1984 por Bjerkas *et al.*, y posteriormente se reportó en terneros con mieloencefalitis (Parish *et al.*, 1987; O'Toole y Jeffrey, 1987), al ser identificado como una de las mayores causas de aborto en el ganado bovino (Thilsted y Dubey, 1989; Thornton *et al.*, 1991; Anderson *et al.*, 1991, 1995, 2000), pero su aislamiento recién fue posible por Dubey *et al.* (1988a,b).

*N. caninum* causa problemas neuromusculares en perros (Barber *et al.*, 1996; McAllister *et al.*, 1998) y abortos en el ganado bovino, pudiendo afectar ocasionalmente a cabras, ovejas, ciervos, rinocerontes, llamas y alpacas (Dubey *et al.*, 2006). Asimismo se ha reportado la presencia de anticuerpos contra *N. caninum*, sin presencia de infección en humanos (Nam *et al.*, 1998; Tranas, *et al.*, 1999).

Nuestro país, hasta el año 2006, mostró una población de 5'223,571 cabezas de bovinos, 14'781,304 de ovinos, 1'942,794 de caprinos, 3'596.753 alpacas, 1'249.179 llamas y 149 502 vicuñas (MINAG, 2006). Datos de suma importancia que reflejan la población ganadera, la misma que puede verse afectada por este parásito, según consta en los reportes de *N. caninum* en bovinos y CSA de diversas zonas del Perú (Andresen, 1999; Silva *et al.*, 2002; Chávez *et al.*, 2002; Quevedo, *et al.*, 2003; Moya *et al.*, 2003; Chávez *et al.*, 2004; Casas *et al.*, 2006; Puray *et al.*, 2006).

La presente revisión bibliográfica, enfoca los principales estudios realizados en el Perú, sobre la presencia de *N. caninum*, además expone algunas consideración respecto a las medidas de prevención y control que podrían aplicarse en nuestro país y especula hacia donde deben de ir dirigidos los estudios, dada la carencia de información en nuestro medio.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. *Neospora caninum*

*Neospora caninum*, pertenece al phylum Apicomplexa, familia Sarcocystidae. Su primer reporte data del año 1984, en el cual se aisló un protozoo no identificado en perros con encefalomiелitis y miositis (Bjerkas *et al.* 1984). El parasito fue descrito y denominado *N. caninum* por Dubey *et al.* (1988a,b) y posteriormente fue reportado en varias especies, incluyendo bovinos, ovinos, caprinos, caballos y ciervos, entre otros (revisado por Dubey y Lindsay, 1996).

Sin embargo, la infección por *N. caninum*, tomó importancia cuando se incrementaron los reportes de problemas reproductivos en el ganado, atribuidos a esta infección, convirtiéndose en la mayor causa de problemas reproductivos a nivel mundial (Hemphill y Gottstein 2000, Dubey *et al.* 2002, Innes *et al.* 2005).

#### 2.1.1. Características morfológicas

Son tres los estadios infectivos del *Neospora caninum*:

- *Taquizoítos*.- Son de forma alunada y mide aproximadamente 2 a 6  $\mu\text{m}$ . Tiene un núcleo central pero escasos gránulos de amilopectina (Dubey *et al.*, 2006). Ellos se dividen rápidamente dentro de las células por endodiogenia y pueden

llegar a infectar muchos tipos celulares incluyendo células nerviosas, endotelio vascular, miositos, hepatocitos, células renales, macrófagos alveolares y trofoblastos de placenta (Barr *et al.*, 1991a,b; Dubey *et al.*, 2002). Los hospederos infectados pueden tener más de 100 taquizoítos en un plano de una sección. Los taquizoítos presentan 22 microtúbulos subpeliculares, un conoide, anillos polares anteriores y posteriores, 8-12 roptrias electrodensas, más de 150 micronemas, mitocondrias tubulares, complejo de Golgi, ribosomas, retículo endoplásmico liso y rugoso, un microporo inactivo y un núcleo vesicular simple (Speer y Dubey, 1989; Lindsay *et al.*, 1993). Pueden encontrarse alojados en tejidos del hospedero definitivo e intermediario (Dubey *et al.*, 2006).

- *Bradizoítos*.- Son de replicación lenta, se encuentran alojados en los quistes tisulares, los cuales son a menudo de forma oval; sin embargo, reportes indican que el tamaño puede variar, ya sea dependiente de la especie o de la cantidad de bradizoítos que puedan albergar (Dubey *et al.*, 2006). Así, se han reportado quistes tisulares de *N. caninum* en perros de más de 107  $\mu\text{m}$ . de diámetro con una pared quística mayor de 4  $\mu\text{m}$ . de espesor (Dubey *et al.*, 2002), y en fetos de bovinos y terneros congénitamente infectados, los quistes encontrados en cerebro y medula espinal son raramente mayores de 50  $\mu\text{m}$ . de diámetro con una pared quística usualmente menor de 2.5  $\mu\text{m}$ . de espesor (Dubey *et al.*, 1989; Barr *et al.*, 1991a,b). Los bradizoítos miden aproximadamente 6.5 x 1.5  $\mu\text{m}$  (Dubey *et al.*, 2004), tiene un núcleo localizado terminalmente y contienen algunos gránulos de amilopectina (Speer y Dubey, 1989; Dubey y Lindsay, 1996; Dubey *et al.*, 2006). Pueden encontrarse alojados en tejidos del hospedero definitivo e intermediario (Dubey *et al.*, 2006).
- *Ooquiste*.- Mide aproximadamente 10 a 12  $\mu\text{m}$ ., tiene forma esférica y su pared es delgada, midiendo de 0.6 a 0.8  $\mu\text{m}$ . de espesor. Los ooquistes son eliminados no esporulados con las heces del hospedero definitivo. Luego de la esporulación el ooquiste contiene dos esporoquistes de forma elipsoidal y miden 8.4 x 6.1  $\mu\text{m}$ . aproximadamente. Cada esporoquiste contiene dos

esporozoitos, los cuales tienen forma elongados y miden 6.5 x 2  $\mu\text{m}$  (Lindsay *et al.*, 1999a). Los ooquistes del *N. caninum* son morfológicamente similares a los ooquistes de *Toxoplasma gondii* y *Hammondia hammondi*, en heces de gatos y de *Hammondia heydorni* en heces de perro (Dubey *et al.*, 2002).

### 2.1.2. Ciclo Biológico

En 1998, estudios demostraron la intervención del perro como hospedero definitivo del *N. caninum* (McAllister *et al.*, 1998), lográndose mediante infección experimental, la eliminación de ooquistes, este hecho fue posteriormente confirmado con el reporte realizado por Basso *et al.*, (2001a) al observar la eliminación de ooquistes en perros infectados naturalmente.

En el ciclo biológico descrito, el perro consume tejidos de animales infectados con *N. caninum*, desarrollando a nivel intestinal la fase sexual del parásito, lo cual conlleva a la eliminación de ooquistes al medio ambiente, mezclados con las excretas. Los ooquistes esporulan en un periodo de uno a tres días y son consumidos, mezclados con los alimentos y el agua de bebida, por los hospederos intermediarios (bovinos, ovinos, caprinos y camélidos entre otros). En el hospedero intermediario se desarrolla la fase asexual del parásito, con la liberación de esporozoitos, que penetran en las células entéricas transformándose en taquizoítos (replicación rápida), que son diseminados a diversas células (células nerviosas, hepáticas, miocitos, fibroblastos y células epiteliales de los túbulos renales y placenta). Posterior a la diseminación de los taquizoítos se realiza la formación de los bradizoítos (replicación lenta) los cuales son enquistados en los denominados “quistes tisulares” y cuya localización principal es el tejido nervioso. En este caso, la ingestión de quistes tisulares da reinicio al ciclo, en el hospedero definitivo (McAllister *et al.*, 1998; Dubey, 1999).

Posteriormente, Gondim *et al.*, (2004a) determinaron la participación del coyote como hospedero intermediario, por lo cual es necesario tener en cuenta su inclusión al explicar el ciclo biológico del parásito. Adicionalmente, estudios encuentran la participación de especies silvestres en el ciclo del parásito, sin embargo, estos datos no

son del todo concluyentes, por lo cual se podría mencionar que el ciclo de vida del parásito no está completamente elucidado (Hemphill y Gottstein, 2006).

Asimismo, cabe mencionar que aún cuando el ciclo biológico del *N. caninum*, mencione con énfasis las ocurrencias entre el hospedero definitivo (perro y coyote) y el intermediario (bovinos, ovinos, caprinos, llamas, alpacas y perro entre otros animales), es necesario mencionar que estudios realizados en ganado bovino, muestran que la transmisión horizontal del parásito puede darse por: 1) la vía oral, con el consumo de ooquistes eliminados por el hospedero definitivo (perro y coyote) o el consumo de calostro o leche infectados con parásitos, los cuales podrían llegar a desarrollar la infección (Davison *et al.*, 2001), esto último debido a la detección de ADN del parásito en muestras de leche y calostro (Moskwa *et al.*, 2003, 2007) ó 2) vía venérea, debido a los hallazgos de ADN parasitario en muestras de semen fresco y congelado (Ortega-Mora *et al.*, 2003; Ferre *et al.*, 2005), aunque hasta el momento esta vía no este completamente confirmada.

## **2.2. Epidemiología.**

Desde 1989, *N. caninum* ha sido notificado a nivel mundial como causante de abortos en el ganado bovino (Otter *et al.*, 1995), ovino (Ortega *et al.*, 1997, Hassig *et al.*, 2003), caprino (Ortega *et al.*, 1997), equino (Dubey y Porterfield, 1990) y en caninos en quienes causa alteraciones nerviosas (Barber *et al.*, 1996; Mineo *et al.*, 2001). Por otro lado, este protozoo ha sido aislado en bovinos (Cuadro 1), perros (Cuadro 2), ovinos, búfalos de agua y ciervos de cola blanca (Dubey, 2003; Dubey *et al.*, 2006); además se ha reportado la existencia de anticuerpos contra *N. caninum* en diversas especies como porcinos (Helmick *et al.*, 2002, Damriyasa *et al.*, 2004), camellos (Hilali, *et al.*, 1998) y camélidos sudamericanos domésticos (Chávez *et al.*, 2002; 2004) entre otros.

**Cuadro 1. Reporte de aislamientos de *N. caninum* en ganado bovino**

<b>País</b>	<b>Cepa aislada</b>	<b>Fuente</b>	<b>Referencia</b>
Australia	NC-Nowra	Ternero de 7 días	Miller <i>et al.</i> , 2002
Italia	NC-PV1	Ternero de 45 días	Magnino <i>et al.</i> , 1999, 2000
Italia	NC-PG1	Ternero de 8 meses	Fioretti <i>et al.</i> , 2000
Japón	JPA-1	Ternero	Yamane <i>et al.</i> , 1997
Japón	BT-3	Vaca adulta	Sawada <i>et al.</i> , 2000
Korea	KBA-1	Ternero de 1 día	Kim <i>et al.</i> , 2000
Korea	KBA-2	Feto	Kim <i>et al.</i> , 2000
Malaysia	Nc-Ma1B1	Ternero	Cheah <i>et al.</i> , 2004
Nueva Zelanda	NcNZ1	Vaca	Okeoma <i>et al.</i> , 2004a
Nueva Zelanda	NcNZ2	Ternero de 2 días	Okeoma <i>et al.</i> , 2004a
Nueva Zelanda	NcNZ3	Mortinato	Okeoma <i>et al.</i> , 2004a
Portugal	NC- Portol	Feto	Canada <i>et al.</i> , 2002
España	NC-SP-1	Feto	Canada <i>et al.</i> , 2004
Suecia	NC-SweB1	Mortinato	Stenlund <i>et al.</i> , 1997
Reino Unido	NC-LivB1	Mortinato	Davison <i>et al.</i> , 1999a
Reino Unido	NC-LivB2	Feto	Trees y Williams, 2000
Estados Unidos	BPA-1	Feto	Conrad <i>et al.</i> , 1993
Estados Unidos	BPA-2	Feto	Conrad <i>et al.</i> , 1993
Estados Unidos	BPA-3	Ternero	Barr <i>et al.</i> , 1993
Estados Unidos	BPA-4	Ternero	Barr <i>et al.</i> , 1993
Estados Unidos	NC-Beef	Ternero	McAllister <i>et al.</i> , 2000
Estados Unidos	NC-Ilinois	Ternero	Gondim <i>et al.</i> , 2002

Fuente: Dubey *et al.*, 2006



## **2.2.1. Hospederos**

### **2.2.1.1. Neosporosis en bovinos**

El primer reporte de *N. caninum* en bovinos, lo realizaron Thilsted y Dubey (1989), en cerebro de fetos bovinos abortados, de vacas de Nuevo México. Sin embargo, el diagnóstico fue confirmado por Lindsay y Dubey (1989) quienes identificaron al parásito en tejido bovino.

Desde entonces los reportes de la presencia de *N. caninum* incrementaron, siendo notificado en diversas partes del mundo, incluyendo Australia, Nueva Zelanda, Corea (Bae *et al.*, 2000), Japón, Tailandia y en el Continente Americano.

La neosporosis asociada al aborto bovino y mortalidad neonatal, ha sido reportado en Argentina, Australia, Bélgica, Brasil, Canadá, Costa Rica, Dinamarca, Francia, Alemania, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Corea, México, Países bajos, Nueva Zelanda, Polonia, Portugal, España, Sur África, Suecia, Reino Unido, Estados Unidos y Zimbabwe (Dubey, 2003; Dubey *et al.*, 2007; Moore, 2005; Moore *et al.*, 2008).

En cuanto al tipo de producción bovina, estudios realizados en fetos abortados de bovinos de leche y de carne, no evidencian diferencia significativa entre la presentación de *N. caninum* en fetos abortados de ganado lechero y de carne (De Meerschman *et al.*, 2002).

En el ganado bovino, los estudios de *N. caninum*, no solo han sido dirigidos a determinar su presentación en vacas y fetos abortados, sino también en determinar la participación del macho en la diseminación del parásito. Así, Ferre *et al.*, (2005), determinaron mediante el empleo de PCR anidado, la presencia de ADN de *N. caninum* en semen y sangre de seis toros seropositivos. En dicho estudio se pudo determinar la carga parasitaria empleando un PCR en tiempo real, siendo de 1 a 10 parásitos/ml. de semen.

### 2.2.1.2. Neosporosis en perros

Bjerkas, en el año 1984, reportó por primera vez, la presencia de un parásito de características similares al *Toxoplasma gondii*, el cual era causante de problemas de tipo neuromusculares en perros. Posteriormente, Dubey *et al.*, (1988), aislaron de 10 perros un parásito ultraestructuralmente distinto al *T. gondii*, denominándolo *Neospora caninum*.

En 1998, McAllister *et al.*, determinaron el ciclo biológico del *N. caninum*, el cual tiene como hospedero definitivo al perro, concentrándose aún mas la atención en esta especie y de los daños que causaba la infección por este parásito.

Desde entonces se reportaron prevalencias de anticuerpos que variaban desde 8.7% a de 22% en Australia, Suecia, Gran Bretaña y Sur África (Bjorkman *et al.* 1994), de 37.8% en Argentina (Basso *et al.*, 2001b), 22% en Nueva Zelanda (Reichel *et al.*, 1998), 10% en Turkia (Çoskun *et al.*, 2000), 6.7% y 10% en Brasil (Mineo *et al.*, 2001; Gennari *et al.*, 2002), 6.4% en Italia (Cringoli *et al.*, 2002), 12% en Chile (Patitucci *et al.*, 2001) y 32.7% y 28.87% en Perú (Del Campo *et al.*, 2003; Horna *et al.*, 2003).

Asimismo, algunos estudios indican la relación entre la presentación de problemas reproductivos en el ganado bovino y la presencia de perros en el hato. El estudio realizado por Basso *et al.*, en Argentina, reportó prevalencias de 48, 54.2 y 26.2%, en perros de establos, lecheros, cárnicos y zonas urbanas, respectivamente (Basso, *et al.*, 2001b).

**Cuadro 2. Reporte de aislamientos de *N. caninum* en perros**

<b>País</b>	<b>Cepa Aislada</b>	<b>Referencia</b>
Argentina <sup>a</sup>	NC-6- Argentina	Basso <i>et al.</i> , 2001a
Brasil <sup>b</sup>	NC-Bahia	Gondim <i>et al.</i> , 2001
Alemania <sup>b</sup>	NC-GER1	Peters <i>et al.</i> , 2000
Reino Unido <sup>b</sup>	NC-liv	Barber <i>et al.</i> , 1995
Estados Unidos <sup>b</sup>	NC-1	Dubey <i>et al.</i> , 1988b
Estados Unidos <sup>b</sup>	NC-2	Hay <i>et al.</i> , 1990
Estados Unidos <sup>b</sup>	NC-3	Cuddon <i>et al.</i> , 1992
Estados Unidos <sup>b</sup>	NC-4	Dubey <i>et al.</i> , 1988a
Estados Unidos <sup>b</sup>	NC-5	Dubey <i>et al.</i> , 1988a
Estados Unidos <sup>b</sup>	CN-1	Marsh <i>et al.</i> , 1998

a: de heces de perro; b: de tejido de perros infectados congénitamente.

Fuente: Dubey, 2003

Sin embargo, en el ciclo biológico, el perro también actúa como hospedero intermediario; de este modo, estudios realizados por Dubey *et al.*, (2004) muestran la presencia de quistes tisulares del parásito, en el cerebro de cachorros que padecían de la enfermedad; los quistes alojados en el cerebro fueron inoculados en ratones, quienes desarrollaron la infección.

Los signos clínicos en perros ocurren con mayor severidad en los cachorros, por la transmisión congénita de la infección. Los signos neurológicos son dependientes del lugar en el que se localice el parásito. En los cachorros, los miembros posteriores son más afectados que los anteriores, presentando hiperextensión rígida. También se puede desarrollar paresis de los miembros posteriores, que desarrolla a parálisis progresiva. Otras disfunciones que se pueden presentar son dificultad para comer, parálisis de la mandíbula, atrofia muscular y fallas cardíacas. Los perros con parálisis de los miembros pueden permanecer alertas y sobrevivir por meses (Barber *et al.*, 1996; Peters *et al.*, 2000; Dubey, 2003). Se mencionan casos fatales de neosporosis en perros de 8 a 15 años de edad (Dubey, 2003).

La infección por *N. caninum*, en los perros puede ser generalizada e incluir todos los órganos, incluyendo la piel, respecto a esto, se reportó un caso en Italia de *N. caninum*, asociado a *Leishmania* sp., en el cual el perro presentó lesiones en piel, así como signos nerviosos (Tarantino *et al.*, 2001).

### 2.2.1.3. Neosporosis en rumiantes menores

*Neospora caninum* en ovinos, fue inicialmente diagnosticado en un ovino, infectado congénitamente en Inglaterra, el cual nació con ataxia parcial y murió a la semana de vida (Dubey *et al.*, 1990a). Posteriormente se han reportado casos en Japón (Kobayashi *et al.*, 2001), obteniéndose en el 2001 el primer aislado de *N. caninum* en una oveja adulta (Koyama *et al.*, 2001).

El primer reporte de *N. caninum* asociado a abortos en ovejas naturalmente infectadas, fue dado por Hassig *et al.*, (2003) quienes encontraron un 10.3% de anticuerpos contra el parásito en 117 ovejas, empleando IFAT, y de 20 fetos abortados analizados por PCR 4 resultaron positivos a *N. caninum*. Asimismo, ensayos serológicos en ovinos de Brasil (Figliuolo *et al.*, 2004; Romanelli *et al.*, 2007), muestran una baja seroprevalencia (menor del 10%) y un reciente estudio en Nueva Zelanda reportó un 0.625% (4/640) de ovinos seroreactores, mediante el empleo de un ELISA comercial (Reichel *et al.*, 2008).

Estudios, muestran que las ovejas gestantes son altamente susceptibles a la infección experimental por *N. caninum*, motivo por el cual es una alternativa como modelo de rumiante para estudios experimentales en la neosporosis bovina (Dubey y Lindsay, 1990; McAllister *et al.*, 1996; Buxton *et al.*, 1997a, 1998; Jolley *et al.*, 1999; Innes *et al.*, 2001a; O'Handley *et al.*, 2002).

En caprinos, estudios realizados en Estados Unidos, Costa Rica y Brasil, muestran la asociación de *N. caninum*, en casos de aborto y mortalidad neonatal en esta especie (Barr *et al.*, 1992; Dubey *et al.*, 1992a, 1996; Corbellini *et al.*, 2002), y en infecciones

experimentales realizadas en caprinos, se produjo el aborto de fetos infectados ante la exposición al *N. caninum*, durante la gestación (Lindsay *et al.*, 1995).

Los signos clínicos en el ovino y caprino, son similares a los presentados en bovinos (Hassig *et al.*, 2003), nacimiento de crías débiles, con incapacidad para mantenerse en pie y con movimientos de pedaleo de las extremidades anteriores (Ortega *et al.*, 1997) y elevación de la temperatura corporal, posterior a la inoculación del parásito experimentalmente (Buxton *et al.*, 1997a).

#### **2.2.1.4. Neosporosis en humanos.**

Hasta la actualidad no se ha reportado al *N. caninum*, como enfermedad zoonótica. Estudios realizados por Graham. *et al.* (1999) y Petersen *et al.* (1999), no detectaron la presencia de anticuerpos contra el parásito, en donadores de sangre y mujeres con historial de aborto, respectivamente. Por otro lado, los estudios realizados por Tranas *et al.* (1999) y Trees y Williams (2000) mostraron bajas seroprevalencias de 6.7 y 0.4% en muestras de donadores de California y de granjeros y mujeres con abortos recurrentes de Inglaterra, respectivamente.

#### **2.2.1.5. Neosporosis en otras especies**

Los estudios relacionados a la neosporosis, son mayormente destinados a determinar su implicancia en el ganado; sin embargo, existen reportes de la presentación del parásito en variadas especies.

Entre los animales silvestres, *N. caninum* ha sido reportado en ciervos cola negra y blanca -*Odocoileus hemionus*- y -*O. virginianus*- (Woods *et al.*, 1994; Dubey *et al.*, 1999), en coyote -*Canis latrans*- (Lindsay *et al.*, 1996a), en ciervo rojo -*Cervus elaphus*- (Ferroglia y Rossi, 2001), en cabra alpina -*Capra ibex*- (Ferroglia *et al.*, 2001), en zorros rojos y dingo australiano (Barber *et al.*, 1997), en zorros rojos (Buxton *et al.*, 1997b), en búfalos de agua de Vietnam (Huong *et al.*, 1998), en león -*Panthera leo*- y

guepardo cautivo -*Acinonyx jubatus*- (Cheadle *et al.*, 1999), en antílopes (*Tragelaphus imberberis*) de Alemania, siendo hallado en fluido fetal, cerebro, pulmón, hígado y bazo (Peters *et al.*, 2001a), en zorro gris -*Urocyon inereoaergeteus*- (Lindsay *et al.*, 2001), en rinocerontes -*Ceratotherium simum*- (Williams *et al.*, 2002), en conejos (*Lepus europaeus*) en Europa (Ferroglio y Trisciuglio, 2003) y en ratas marrones silvestres (*Rattus norvegicus*) en Taiwán (Huang *et al.*, 2004).

Asimismo, el estudio realizado por Ferroglio *et al.* (2003), en Kenia, en animales silvestres, demostró la presencia de anticuerpos a *N. caninum*, empleando la Técnica de Aglutinación Directa (DAT), en alce africano (*Taurotragus oryx*), cebras (*Equus burchelli*), búfalo africano (*Syncerus caffer*), gacelas (*Gazella thompsoni*), jabalí (*Phacochoerus aethiopicus*), león (*Panthera leo*), en guepardo (*Acinonyx jubatus*) y hiena (*Crocuta crocuta*) y Gondim *et al.* (2004b), con la finalidad de determinar la relación entre los animales domésticos y silvestres en el ciclo del *N. caninum*, determinaron la presencia de anticuerpos en lobos (*Canis lupus*), coyotes (*Canis latrans*), ciervos de cola blanca (*O. virginianus*) y alces (*Alces alces*).

Posteriormente al reporte del coyote (*Canis latrans*) como hospedero definitivo del *N. caninum* (Gondim *et al.*, 2004a), un estudio en Canadá, reportó la presencia de ooquistes en las heces de 2 coyotes; asimismo, el mismo estudio reportó la presencia de ooquistes en heces de 2 zorros, sin embargo, aún no se indica que el zorro también actúe como hospedero definitivo de *Neospora* (Wapenaar *et al.*, 2006).

En mamíferos marinos Dubey *et al.* (2003) demostraron la presencia de *N. caninum* en morsas (*Odobenus rosmarus*), nutria de mar (*Enhydra lutris*), focas (*Phoca vitulina*, *Phoca hispida*, *Erignathus barbatus*), leones marinos (*Zalophus californianus*) y delfines (*Tursiops truncatus*).

En aves, los estudios realizados hace aproximadamente una década atrás, fueron experimentalmente. En aquel tiempo la infección solo había sido inducida en palomas domésticas (*Columbia livia*) del orden Columbiformes, lo cual no significaba que esta especie actuara como hospedero intermediario dentro del ciclo de *N. caninum* (McGuire *et al.*, 1999). Sin embargo, un reciente estudio realizado por Costa *et al.* (2008) en

Brasil, muestra la participación de aves de la especie *Gallus domesticus*, como hospedero intermediario del *N. caninum*, al encontrar animales positivos al parásito, empleando tanto la técnica de IFAT, como de PCR.

Estudios realizados en porcinos muestran una exposición al *N. caninum*, sin embargo su forma de presentación no sigue un mismo patrón. Así, Helmick *et al.* (2002) realizaron estudios en marranas con historial de aborto e infertilidad, encontrando 40 positivas a *N. caninum*, por la técnica de ELISA, mientras que por la técnica de IFAT resultaron negativas. Otro estudio realizado por Damriyasa *et al.* (2004), muestra que de 2,041 muestras analizadas, 67 reaccionaron empleando un ELISA, pero solo 1 fue confirmada por inmunoblot.

En equinos, Dubey y Porterfield en 1990 reportaron la presencia de taquizoitos de *N. caninum* en el pulmón de un feto abortado, lo que puede atribuirse como una posible causa de aborto. Así mismo, casos de enfermedad neurológica como ataxia asimétrica progresiva y debilidad de los miembros posteriores, han sido reportados en caballos (Marsh *et al.*, 1996; Daft *et al.*, 1996).

En Camélidos Sudamericanos, el primer reporte fue realizado en alpacas por Chávez *et al.* (2002, 2004), en nuestro país. En el 2005, Wolf *et al.*, reportan la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en alpacas y llamas de Perú y Alemania, y posteriormente la presencia de *N. caninum* ha sido reportada en llamas procedentes de Argentina, con un 4.6% (Moré *et al.*, 2008).

### **2.2.2. Factores de riesgo**

- **Presencia del hospedero definitivo.**- El perro y coyote por ser hospederos definitivos del *N. caninum* (McAllister *et al.*, 1998; Lindsay *et al.*, 1999b; Gondim *et al.*, 2004a), representan gran importancia en la transmisión horizontal de la infección. Por ello se indica que existe asociación entre la presentación de *N. caninum* en hatos con problemas de aborto y la presencia de perros (Barling *et al.*, 2000; Corbellini *et al.*, 2002; Ståhl, 2006) y cánidos silvestres (Barling *et*

*al.*, 2000; Corbellini *et al.*, 2002). Asimismo se menciona que un perro puede eliminar más de 500,000 ooquistes después del consumo de tejido infectado pudiendo infectar potencialmente a ciento o miles de vacas (Gondim *et al.*, 2002; Gondim, 2006).

- **Edad de la madre.**- Estudios realizados en novillas y vacas, muestran que existe mayor repercusión en novillas, ante la infección por *N. caninum* (Dijkstra *et al.*, 2003). En base a esto, se menciona que la magnitud de infección por *N. caninum* es mas evidente en novillas y decrece con el número de partos, lo que sugiere que la inmunidad protectora materna incrementa con la edad (Dijkstra *et al.*, 2003; Ståhl, 2006). Sin embargo, también se menciona que el riesgo de volverse seropositiva puede incrementar con la edad o el número de gestaciones tanto en ganado de carne como de leche (Jensen *et al.*, 1999; Dyer *et al.*, 2000; Sanderson *et al.*, 2000).
- **Aborto.**- La neosporosis es considerada uno de los mayores problemas en los establos, por causar mortalidad fetal y neonatal (Wouda *et al.*, 1997a). Anderson *et al.* (1995) reportaron que 42% de abortos en California fueron debidas al *N. caninum* y en hatos de Gran Bretaña y Nueva Zelanda, las tasas de aborto anual fueron de 16 y 30% respectivamente (Dannat *et al.*, 1995; Thornton *et al.*, 1991). Los abortos en el ganado debido a *N. caninum*, se reportan en fetos de aproximadamente 3.5 meses de gestación a termino (Dubey *et al.*, 1997; Slotved *et al.*, 1999).
- **Asociación entre seropositividad y aborto.**- En *N. caninum*, la transmisión vertical o congénita es considerada la mas importante de las vías de transmisión (Anderson *et al.*, 1997; Bjorkman *et al.*, 1996; Davison *et al.*, 1999b; Paré *et al.*, 1996; Schares *et al.*, 1998; Wouda *et al.*, 1998). Lo cual es corroborado mediante el estudio en muestras de sangre precalostrales, evidenciando que entre 81-95% de vacas infectadas por *N. caninum*, transmiten la infección a sus crías (Davison *et al.*, 1999b; Paré *et al.*, 1996, 1997; Wouda *et al.*, 1998). Asimismo, estudios realizados en vacas seropositivas y fetos abortados, indican que existe mayor probabilidad de aborto en una vaca seropositiva que en una seronegativa



(McNamee *et al.*, 1996; Paré *et al.*, 1997; Davison *et al.*, 1999c). Estos datos son confirmados por estudios realizados en EEUU, Inglaterra y Brasil que muestran 2.0, 3.5 y 3.3 más probabilidad de aborto en vacas seropositivas que en seronegativas (Paré *et al.*, 1997; Davison *et al.*, 1999c; Corbellini *et al.*, 2002).

Cabe mencionar que aún cuando los descartes de presentación de *N. caninum* en vacas se realizan mediante la detección de anticuerpos, algunos estudios muestran la seroconversión negativa de vacas seropositivas (Cox *et al.*, 1998; López-Gatius *et al.*, 2004; Kyaw *et al.*, 2005).

- **Gestación.-** La infección con *N. caninum* en grupos de vacas gestantes, es fácilmente adquirida debido a que la regulación inmune se encuentra suprimida durante esta etapa (Quinn *et al.*, 2002). En estos casos, se asume que la infección fetal es adquirida posterior a la parasitemia materna. Sin embargo se menciona, que más infecciones ocurren en vacas que presentaban infección persistente, que las que entraban en gestación (Buxton *et al.*, 2002).
- **Recrudescencia de la infección.-** La recrudescencia de la infección en vacas seropositivas, con infección crónica de neosporosis, pueden resultar en parasitemia e infección fetal.
- **Transmisión lactogénica.-** Un reciente estudio realizado en el 2007, evidenció la presencia de ADN de *N. caninum* en el calostro de vacas seropositivas, lo cual implica la posibilidad de transmisión a través del calostro (Moskwa *et al.*, 2007). Asimismo estudios experimentales han demostrado que terneros neonatales pueden infectarse por la ingestión de leche conteniendo taquizoítos (Uggla *et al.*, 1998; Davison *et al.*, 2001).
- **Inmunosupresión, debida a enfermedades infecciosas.-** El virus de la Diarrea Viral Bovina (BVDV) pertenece a la familia Flaviviridae, y una de las importancias de este virus es la inducción de inmunosupresión e incremento de susceptibilidad a otros patógenos (revisado por Ståhl, 2006), como el *N. caninum*. En estos casos las infecciones por *N. caninum* afectan

significativamente el riesgo de aborto en los hatos con presencia de BVDV (Hässig y Gottstein, 2002). Al respecto Björkman *et al.* (2000) observó una asociación estadísticamente significativa entre anticuerpos contra *N. caninum* y BVDV.

Por otro lado, un estudio realizado en Italia, mostró una asociación positiva entre anticuerpos contra *N. caninum* y anticuerpos contra herpes virus bovino 1 (BHV-1). La posibilidad de si la inducción de inmunosupresión por BHV-1, después de la infección natural o vacunación, pueda incrementar la susceptibilidad del ganado a una infección secundaria con *N. caninum* ha sido discutida (Rinaldi *et al.*, 2007).

- ***Introducción de ganado nuevo en el hato y el descarte serológico de Neospora.***- Aún cuando la literatura indica que se debe realizar el descarte serológico de algunas enfermedades en el ganado nuevo que ingresa a un hato, como BVDV, BHV-1, Brucelosis y *N. caninum*, entre otros, la poca previsión de muchos ganaderos así como de la falta de una norma técnica que imponga este diagnóstico como práctica rutinaria para la introducción o importación de nuevos animales, sean factores que permiten la introducción de *Neospora* en la ganadería nacional.
- Dado que el comercio de ganado es amplio en diversas partes del mundo; es probable que el ingreso de este protozoo a nuestro país se haya debido a las importaciones masivas de ganado vacuno; como lo acontecido en el período de 1985 hasta el 2006, donde se llegó a importar 8,834 vacunos para reproducción, procedente de países como Estados Unidos, Uruguay, Brasil, Canadá, Alemania, Argentina, Nueva Zelanda, Panamá, México Colombia, Australia, Gran Bretaña y Chile, siendo los de mayor exportaciones los tres primeros con porcentajes de 36.6, 19.1 y 15.9%, respectivamente (SAU-SENASA)
- En forma simultánea, desde 1993 hasta el 2006 se registró la importación de 31,248 cabezas de ganado procedente de países como Ecuador, Brasil, México,

España y Bolivia, siendo el mayor exportador Ecuador con 30,420 cabezas de ganado y de cuyo país no se tiene suficiente información acerca de la presencia de *Neospora* en el ganado (SAU-SENASA).

- Se conoce que el caso más antiguo neosporosis en bovinos data del año 1974 en Australia, con el hallazgo serológico de animales seroreactores; asimismo, el parásito es endémico desde aproximadamente 1985 en California (Pereira-Bueno *et al.*, 1999). Posteriormente en 1989, Thilsted y Dubey realizaron el primer reporte de *N. caninum* en cerebro de fetos bovinos abortados de vacas de Nuevo México, siendo atribuido a este parásito la causa de abortos en la especie bovina (Lindsay y Dubey, 1989), siendo desde entonces reportada en diversos países.
- .Es probable que la presencia de *N. caninum*, en el ganado bovino, posiblemente se deba a la introducción del parásito en el ganado importado. Se conoce que un gran porcentaje de los animales para engorde provienen de importaciones desde los países fronterizos, tal es el caso de Ecuador quien según datos del Servicio de Atención al Usuario (SAU) del SENASA, registra la mayor importación de ganado de engorde, siendo a la vez reportado por Lozada (2004) que ganado bovino de Ecuador presenta una elevada prevalencia a *Neospora* (50 – 60%). Por tanto, es probable que el ingreso de la enfermedad o del parásito se deba a la importación de ganado en nuestro país, el cual en el caso de ganado de engorde, en los puestos fronterizos, no se exige la presentación de certificado alguno que constate la reacción negativa al parásito, ya que este es destinado al beneficio.
- Tambien es probable que el parásito se puede haber diseminado a otras áreas y a otras especies, como es el caso de los CSA, por medio del hospedero definitivo, el cual en nuestro país se encuentra en estrecho contacto con el ganado bovino tanto en explotaciones intensivas (en el cual lo emplean como guardián del ható) como en explotaciones semi-intensivas y extensivas, en las cuales se uso como un agente de apoyo en el pastoreo del ganado. En este sentido el canino como hospedero definitivo puede haber adquirido la enfermedad (transmisión horizontal) de un bovino infectado y habérsela transmitido a otras especies a través de la contaminación con ooquistes (que elimina en las heces) de las zonas

de pastoreo o alimentos almacenados, posibilitando así tanto la infección de otras especies, que actúan como hospedero intermediario, como con otros caninos domésticos y silvestres lo que propicia aún más su diseminación.

- Además de la presencia del hospedero definitivo, factores ambientales, así como el manejo de los animales y el lugar de acceso a los sistemas de crianza, también influyen en la presentación de este parásito, ya que estudios realizados en CSA en nuestro país, muestran que existe una menor prevalencia en la sierra sur en comparación con la sierra central, encontrándose en esta última las condiciones más favorables para la presentación y diseminación de *Neospora*.

### **2.2.3. Impacto económico**

Ante la presentación de infección por *N. caninum*, se menciona que el impacto económico depende de los costos directos y los valores de fetos perdidos, y los costos indirectos, que incluyen los servicios profesionales y costos asociados con el establecimiento del diagnóstico, recría, posibles pérdidas en la producción de leche y costos de reemplazos en vacas abortadas destinadas a la saca (Thurmond y Hietala, 1995, 1996, 1997; Hernández *et al.*, 2001; Dubey, 2003). Al respecto, en California se estiman pérdidas por año de 35 millones de dólares (Dubey, 1999a).

En cuanto al impacto de la presentación de *N. caninum* en la producción láctea, este ha sido estudiado en el ganado bovino; sin embargo, los estudios realizados no son concluyentes ante si la infección ocasiona o no pérdidas económicas en la ganadería lechera. Al respecto, dos estudios realizados en EEUU, concluyeron que vacas seropositivas a *N. caninum* producían 1.3 Kg/día/vaca, menos de leche que las vacas seronegativas (Thurmond y Hietala, 1997; Hernández *et al.*, 2001); sin embargo, resultados contradictorios fueron encontrados por Pfeiffer *et al.* (2002), quienes observaron que las vacas seropositivas tuvieron 0.4 Kg/día/vaca, más de leche que las vacas seronegativas. Otros estudios realizados por Keefe y VanLeeuwen (2000); Hobson *et al.* (2002) y Hall *et al.*, 2005, aunque encontraron mayor producción láctea en vacas seropositivas, no encontraron diferencia significativa entre la producción de vacas seropositivas y seronegativas.

## **2.3. Signos Clínicos y Lesiones**

### **2.3.1. Signos Clínicos**

El aborto es la mayor manifestación clínica de la neosporosis bovina en ganado de leche y de carne. Los fetos abortados entre 3 y 8 meses de gestación muestran moderada autólisis, pero los fetos abortados antes de los cinco meses de gestación pueden estar momificados o retenidos en el útero por varios meses y si la infección se da en estadios tempranos de la gestación, pueden ser reabsorbidos, mostrando con frecuencia repetitividad del celo (Anderson *et al.*, 1991; Barr *et al.*, 1991a; González *et al.*, 1999; Morales *et al.*, 2001; Sager *et al.*, 2001; Moore *et al.*, 2002; Dubey, 2003; Dubey *et al.*, 2006).

En el caso de terneros, los signos clínicos solo han sido reportados en terneros de 2 meses de edad. La infección de *N. caninum* en terneros puede producir signos neurológicos, pérdida de peso, poco tamaño, o ser un ternero sin signos clínicos de la enfermedad. Los miembros anteriores y/o posteriores pueden estar flexionados o hiperextendidos. Los exámenes neurológicos pueden revelar ataxia, disminución del reflejo patelar y pérdida de sensibilidad propioceptiva. También pueden presentar exoftalmia o apariencia de asimetría en los ojos. Ocasionalmente puede presentarse defectos al nacimiento como hidrocefalia, escoliosis y estrechamiento de la medula espinal (Parish *et al.*, 1987; O'Toole y Jeffrey, 1987; Dubey, 2003; Dubey *et al.*, 1990a,b, 2006; Barr *et al.*, 1993; Dubey y de Lahunta, 1993; Bryan *et al.*, 1994; Peters *et al.*, 2001b).

### **2.3.2. Lesiones**

Lesiones histopatológicas características de *N. caninum* pueden encontrarse en varios órganos, dentro de los cuales el cerebro fetal es el más afectado, observándose multiplicación de taquizoítos alrededor de pequeños vasos sanguíneos, al inicio de la encefalitis (Barr *et al.*, 1991b; Dubey *et al.*, 1992b), siendo probable que una proporción de estos casos de encefalitis ocasione la muerte del feto (Dubey *et al.*, 2006).

Si la infección de la madre, se llegase a presentar en estadios tempranos de gestación, se puede producir la reabsorción fetal o la muerte temprana del feto, que es manifestada con el aborto (Dubey, 1999a,b); asimismo, si la gestación llegase a término, se puede presentar el nacimiento de un ternero enfermo, con deformaciones o un ternero clínicamente normal pero crónicamente infectado (Paré *et al.*, 1996; Schares *et al.*, 1998; Dubey, 1999a,b).

## **2.4. Patogenia**

La transmisión de *N. caninum* es posible mediante la transmisión vertical en útero, lo cual corresponde a modos de infección endógena y exógena (Trees y Williams, 2005) y por la transmisión horizontal mediante la ingestión de oquistes eliminados por el hospedero definitivo (Paré *et al.*, 1996; Anderson *et al.*, 1997; Schares y Conraths, 2001).

Debido a que la neosporosis bovina es mayormente una enfermedad que afecta la placenta y feto, lo cual es iniciado con la parasitemia maternal adquirida de forma exógena (infección maternal) o endógena (recrudescencia de la infección por *Neospora*), durante la gestación (Dubey *et al.*, 2006), la mayoría de estudios son dirigidos a determinar su efecto en el ganado gestante y en la cría.

### **2.4.1. Infección exógena transplacental**

Es adquirida ante una infección primaria de una vaca preñada, como resultado de la ingestión de oquistes esporulados de *N. caninum*, los cuales en estado enquistados llegan al intestino delgado, donde liberan los esporozoitos, que se alojan en epitelio intestinal, dando lugar a la formación de taquizoítos que son diseminados por el torrente sanguíneo a diversos órganos, dentro de los cuales se encuentra el útero grávido (Dubey *et al.*, 2006). En base a lo anterior, se reporta que en infecciones experimentales con *N. caninum*, en vacas no gestantes, no se llegó a desarrollar una enfermedad clínica

significativa (Dubey *et al.*, 2006), lo cual demuestra la importancia de la infección en hembras gestantes.

#### **2.4.2. Infección endógena transplacental**

Se menciona que este modo de transmisión es el más común de la infección en el ganado (Paré *et al.*, 1996; Bjorkman *et al.*, 1996; Anderson *et al.*, 1997; Schares *et al.*, 1998). Diversos estudios mencionan que es más probable el aborto en una vaca seropositiva que en una seronegativa (Thurmond *et al.*, 1997; Moen *et al.*, 1998; Wouda *et al.*, 1998), pudiendo presentarse el aborto en cualquier momento de la gestación, sin embargo, la mayoría de reportes mencionan mayor presentación de abortos entre los 5 y 6 meses de gestación (Anderson *et al.*, 1991, 1995; Wouda *et al.*, 1999), tiempo durante el cual por mecanismos inmunes, se produce una reactivación de una infección persistente ya establecida (Innes *et al.*, 2005), en estos casos el parásito se presenta mayormente alojado en forma de quiste tisular en el sistema nervioso central y en el músculo esquelético (Sawada *et al.*, 2000; Peters *et al.*, 2001b; Schares *et al.*, 2001).

#### **2.4.3. Patogenia en la placenta**

Infecciones experimentales muestran que cuando *N. caninum* invade las células en el útero bovino, este causa una destrucción focal por multiplicación del parásito tanto a nivel materno como en el tejido fetal, en la interface materno-fetal, propiciando una respuesta inflamatoria no supurativa (Maley *et al.*, 2003; Macaldowie *et al.*, 2004), la cual se menciona es acompañada por células T CD4+, CD8+ y  $\gamma\delta$  (Innes *et al.*, 2005). Estos estudios sugieren que en algunos casos, la muerte fetal más posible como resultado de la respuesta inmune de la madre, causada por el parásito, lo cual conlleva a la pérdida de capacidad del tejido uterino de mantener la viabilidad del feto, produciendo con ello la expulsión de este mediante el aborto.

#### **2.4.4. Patogenia en el feto**

Cuando la placenta se encuentra infectada por la presencia de *N. caninum*, los parásitos ingresan al torrente sanguíneo fetal e invaden futuros tejidos, con una predilección por el sistema nervioso central (Macaldowie *et al.*, 2004). Aquí *N. caninum* se localiza inicialmente en los alrededores de los vasos sanguíneos (Barr *et al.*, 1991a; Dubey *et al.*, 1992b), y en el feto joven, la multiplicación incontrolable puede causar una diseminación letal con la destrucción del neuropilo, con poco o ningún foco de inflamación (Ogino *et al.*, 1992; Buxton *et al.*, 2002). Por otro lado, en fetos de mayor edad se da una respuesta al parásito, la multiplicación es más restringida y la necrosis es confinada a pequeños focos, por un infiltrado inflamatorio fetal conteniendo microglia, astrocitos reactivos y células de la serie monocitos y linfoides (Barr *et al.*, 1994; Otter *et al.*, 1995; Wouda *et al.*, 1997b; Schock *et al.*, 2000); estos focos pueden mineralizarse (Boulton *et al.*, 1995; González *et al.*, 1999). Los fetos abortados infectados, presentan necrosis multifocal y diseminación de infiltraciones mononucleares en muchos tejidos, incluyendo el corazón, músculo esquelético, pulmón e hígado (Anderson *et al.*, 1991; Barr *et al.*, 1991a; Wouda *et al.*, 1997b). En algunos fetos, *N. caninum* puede causar lesiones características de inflamación y necrosis, con la demostración del parásito en tejidos como el hígado y corazón; mientras que en el cerebro, puede ser vista una leucomalacia focal indicativo de hipoxia fetal antes del nacimiento. Así, *N. caninum* es un patógeno primario capaz de causar aborto a través de la inflamación de la placenta, necrosis placentar maternal y fetal o daño fetal, o una combinación de los tres (Dubey *et al.*, 2006).

#### **2.5. Inmunidad.**

Estudios inmunológicos realizados en *N. caninum* muestran que la producción de citocinas reguladoras de la respuesta inmune celular y humoral pueden tener un importante rol en el control de la infección por este parásito (Nishikawa *et al.*, 2002).



### **2.5.1. Inmunidad humoral**

Tanto en animales adultos, como en fetos, la infección, provoca el desarrollo de una respuesta inmune humoral, cuya puesta en evidencia es de gran ayuda para el diagnóstico. La cinética de anticuerpos de los animales con infección natural, demuestra que los títulos de anticuerpos incrementan, alterándose el estatus serológico del individuo con el paso del tiempo (Ortega *et al.*, 2001).

Estudios experimentales de infección oral con ooquistes de *N. caninum* en terneros muestran la presencia de IgG1 anti *N. caninum* a las dos primeras semanas post-infección y de IgG2 anti *N. caninum* a las cuatro semanas post-infección (De Marez *et al.*, 1999).

### **2.5.2. Inmunidad celular**

Patógenos intracelulares, como el *N. caninum*, estimulan una respuesta inmune mediada por células (Marks *et al.*, 1998; Innes *et al.*, 2000; Bartley *et al.*, 2004; Dubey *et al.*, 2006), usualmente las del tipo Th1, con la participación relevante de interleucina (IL)-12, IFN $\gamma$  (Eperon *et al.*, 1999; Entrican, 2002; Nishikawa *et al.*, 2003) y la citocina proinflamatoria del factor de necrosis tumoral alfa (FNT- $\alpha$ ) (Eperon *et al.*, 1999; Entrican, 2002). Después de la infección, se induce particularmente, la producción de células fagocíticas que producen IL-12, la cual, estimula la producción de interferón gamma (IFN $\gamma$ ) por células T y NK. Subsecuentemente, el IFN $\gamma$ , activa células fagocíticas, que producen niveles altos de IL-12, siendo a su vez, productor de su inhibidor (IL-10), ante toxinas y algunos efectos letales, el cual es secretado mayormente, por linfocitos y células fagocíticas (Eperon *et al.*, 1999).

Así también, se da una respuesta inmune, mediante el empleo de linfocitos T citotóxicos que tienen un significativo rol protector demostrable por la muerte de autólogos de células infectadas por *N. caninum*, con linfocitos T citotóxicos CD4+ (Staska *et al.*, 2003). Este grado de protección es realizado en vacas gestantes, durante el estadio temprano de la gestación. Sin embargo, a mediados de la gestación la

inmunidad parece modificarse, observándose una disminución de proliferación celular en respuesta a los antígenos específicos de *N. caninum*, y una correspondiente reducción en la producción de IFN- $\gamma$ , sugiriéndose en esta etapa la reactivación de quistes tisulares de *N. caninum* (Innes *et al.*, 2001b).

Durante la gestación el organismo produce la regulación de la citosina Th1 que puede ser incompatible con la gestación (Quinn *et al.*, 2002), desde donde se promueve la reabsorción fetal. Sin embargo, las células Th1 producen la IL-2, el FNT- $\beta$  e IFN- $\gamma$ , los cuales son los principales efectores de la defensa del hospedero mediada por fagocitos (Mosmann y Coffman, 1989), que son altamente protectivos contra infecciones ocasionadas por parásitos intracelulares. La autorregulación de la citosina Th1 durante mediados de la gestación, conduce a la parasitemia, donde los taquizoítos del parásito pueden ser encontrados en varios órganos (Barr *et al.*, 1994; Buxton *et al.*, 1998) y fluidos corporales (Okeoma *et al.*, 2004b; Ortega-Mora *et al.*, 2003).

Estudios experimentales realizados en ratones infectados con *N. caninum*, muestran una significativa producción de IFN- $\gamma$  durante el estadio temprano de la infección (Khan *et al.*, 1997). Sin embargo, in vivo la depleción de IFN- $\gamma$  con los anticuerpos producen ratones susceptibles a la infección indican que esta citosina es un componente esencial en la respuesta del hospedero al *N. caninum*. Así también, los análisis de citocinas en suero de ratones que sobrevivieron a la infección aguda experimental por *N. caninum*, muestran la presencia de IFN- $\gamma$  y de IL-4, lo cual sugiere que ambas citosinas son necesarias para la sobrevivencia del hospedero (Khan *et al.*, 1997; Baszler *et al.*, 1999; Nishikawa *et al.*, 2003).

## **2.6. Diagnóstico.**

El diagnóstico de la neosporosis bovina es basada en la detección de signos clínicos, lesiones compatibles por exámenes histológicos de los tejidos fetales, en donde la presencia del parásito puede ser confirmado por técnicas inmunohistoquímicas (Lindsay y Dubey *et al.*, 1989; Anderson *et al.*, 1991; Wouda *et al.*, 1997b). Asimismo, varios estudios serológicos han sido desarrollados e incluidos, como la prueba de

Inmunofluorescencia indirecta (IFI), la prueba de Aglutinación Directa y diferentes ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas -ELISA- (Bjorkman y Uggl, 1999), de los cuales muchos se encuentran disponibles comercialmente (Cuadro 3).

### **2.6.1. Diagnóstico serológico**

Los análisis serológicos de *N. caninum* tienen la importancia de poder realizarse ante mortem y proveer la información del estadio de la infección.

#### **a. Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas**

En la actualidad existen modificaciones de ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), que permiten su empleo en estudios epidemiológicos.

En este caso, se puede mencionar el ELISA-sandwich, desarrollado por Schares *et al.* (1999) para la detección de anticuerpos contra *N. caninum* en bovinos; el ISCOM ELISA, desarrollado por Björkman *et al.*, (1994) que es un ELISA soluble, el cual usa como antígeno un extracto de taquizoítos incorporado a un complejo inmunoestimulante; el ELISA de competición, desarrollado por Baszler *et al.* (1996), que utiliza un anticuerpo monoclonal contra taquizoítos, el ELISA múltiple, desarrollado por Osawa *et al.* (1998), empleado para detectar anticuerpos específicos contra *N. caninum* en sueros bovinos, ovinos y caprinos, y el ELISA de avidéz, desarrollado por Björkman *et al.* (1999), el cual puede discriminar entre infecciones recientes y crónicas, siendo útil como herramienta para investigar la duración de la infección y determinar el potencial de la infección horizontal post-natal (Björkman *et al.*, 1999), así mismo para estudios seroepidemiológicos en vacas con y sin historial de aborto (Sager *et al.*, 2003).

El ELISA, posee ventaja en cuanto al costo/tiempo, ante exámenes de un gran número de muestras de suero, lo cual es aplicable en hatos en los cuales es necesario el análisis de un gran número de animales (Ej. CIVTEST BOVIS *NEOSPORA*, el cual puede ser empleado en el diagnóstico de ganado adulto y en terneros pre-calostrales). Sin embargo, en cuanto a especies menores, los laboratorios de diagnóstico veterinario,

repcionan pocas muestras, tal es el caso de las muestras de perros, por lo cual en estos casos el IFAT es utilizado como examen de rutina, por causa de su flexibilidad (Bjorkman y Uggla, 1999).

#### **b. Inmunoblot**

Inmunoblot (IB) es una técnica utilizada en combinación con otras técnicas. Es una técnica esencial para detección de antígenos inmunodominantes (Atkinson *et al.*, 2000), y que además es confirmatoria de otras pruebas serológicas (Atkinson *et al.*, 2000; Schares *et al.* 1998). Para el caso de animales infectados con *N. caninum* reconocen predominantemente antígenos con un peso molecular de 17, 29/30 y 37 Kda. En el IB un resultado es considerado positivo cuando 2 ó 3 de 4 antígenos inmunodominantes están presentes (Bjerkas *et al.*, 1994).

#### **c. Aglutinación Directa**

El principio de este examen es la utilización de taquizoítos fijados en formalina, los cuales, mediante procesos de dilución del suero con solución de fosfato salino buferada (PBS) a un pH de 7.2, conteniendo mercaptoetanol e incubación, aglutinan ante la presencia de anticuerpos específicos.

La técnica de aglutinación directa (DAT), no requiere de anticuerpos secundarios específicos, y es empleado en un amplio rango de hospederos mostrando similar sensibilidad y especificidad a la técnica de IFI (Packham *et al.*, 1998; Romand *et al.*, 1998). Asimismo, DAT comerciales, se encuentran disponibles en el mercado (Ferroglia y Trisciuglio, 2003; Ferroglia *et al.*, 2003).

#### **d. Inmunofluorescencia Indirecta**

La técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) es empleada para la detección de anticuerpos contra el *N. caninum*. Fue la primera técnica utilizada en el diagnóstico serológico, siendo actualmente considerada como estándar para la comparación con otras técnicas que se han desarrollando (Ortega-Mora *et al.*, 2006).

Para el desarrollo de esta prueba se emplean taquizoítos y conjugado anti-IgG, de la especie estudiada, marcado con una fluoresceína (Bjorkman y Uggla, 1999). La

dilución de los sueros se realiza con PBS (Paré *et al.*, 1995), variando el punto de corte de acuerdo a la especie y en algunos casos de acuerdo a la edad (Dubey y Lindsay, 1996; Dubey *et al.*, 1997).

El punto de corte difiere entre laboratorios, desde 1:100 hasta 1:640 para bovinos adultos y desde 1:16 hasta 1:80 para serología fetal (Björkman y Uggla 1999, Álvarez-García *et al.* 2003). Un punto de corte recomendado en IFI para detectar la infección es 1:200 para ganado bovino adulto (von Blumröder *et al.* 2004) y 1:16–1:25 en fluidos fetales (Álvarez-García *et al.* 2003). Cabe mencionar que el desarrollo de esta técnica requiere de entrenamiento y experiencia y los resultados dependen de la subjetividad del lector.

Esta técnica es considerada específica y sensible para detectar anticuerpos contra *N. caninum* en fluidos fetales, empleándose en estos casos un menor título que indique una respuesta específica (Wouda *et al.*, 1997a; Barr *et al.*, 1995; Otter *et al.*, 1997; Slotved *et al.*, 1999).

Es importante destacar que la detección de anticuerpos por IFI puede diagnosticar falsos positivos, si se emplea suero fetal bovino como medio de cultivo celular que a menudo contiene anticuerpos de *N. caninum*, como se encuentra en la US y Europa (Dubey y Schares, 2006).

#### **e. Prueba Rápida Inmunocromatográfica (ICT)**

Liao *et al.* (2005) reportó el desarrollo de una prueba inmunocromatográfica (ICT) empleada con antígeno de superficie recombinante-1 de *N.caninum* (NcSAG1), para la detección rápida de anticuerpos específicos contra *N.caninum*, en el ganado. La prueba rápida presentó buena correlación con la técnica de ELISA. El ICT es un método simple, rápido, características que lo hacen ideal para aplicaciones clínicas y de campaña; sin embargo desde su reporte en el 2005, no se han presentado mayores estudios en cuanto a esta prueba rápida.

**Cuadro 3. Pruebas de diagnóstico serológico comercialmente disponibles**

<b>Nombre comercial</b>	<b>Prueba</b>	<b>Laboratorio</b>
BIOVET <i>Neospora caninum</i>	ELISA indirecto	BIOVET, Canadá
CHEKIT <i>Neospora</i> Dr. Bommeli / IDEXX	ELISA indirecto	IDEXX, Países bajos
CIVTEST BOVIS <i>NEOSPORA</i>	ELISA indirecto	HIPRA, España
Cypress Diagnostic C.V. <i>Neospora caninum</i>	ELISA indirecto	Cypress Diagnostics, Bélgica
HerdChek IDEXX	ELISA indirecto	IDEXX, USA
MASTAZYME <i>Neospora</i>	ELISA indirecto	MAST GROUP, Reino Unido
<i>Neospora caninum</i> blocking ELISA	ELISA competitivo	Institut Pourquier, Francia
P38-ELISA	ELISA indirecto	AFOSA GmbH, Alemania
ImmunoComb bovine <i>Neospora caninum</i>	ELISA DOT	Biogal, Israel
SVANOVIR <i>Neospora</i> -Ab ELISA	ELISA indirecto	SVANOVA Biotech AB, Suecia
VMRD <i>Neospora caninum</i> cELISA	ELISA competitivo	VMRD, USA
VMRD <i>Neospora caninum</i> FA substrate slide	IFAT	VMRD, USA

Fuente: Dubey y Schares, 2006.

### 2.6.2. Diagnóstico no serológico

#### a. Aislamiento del parásito

Este método puede realizarse *in vivo* o *in vitro*. En el primer caso, ejemplo de ello es el estudio realizado por Mc.Allister *et al.* (1998a), mediante el cual inoculando

ratones con ooquites expulsados con las heces de perros se determinó al perro como hospedero definitivo del *N. caninum*; así mismo, estudios experimentales que utilizan al ratón como modelo, ya sea para ver la respuesta inmune, como las lesiones que causan la inoculación de los diferentes estadios del parásito, han sido realizados (Khan *et al.*, 1997; Eperon, *et al.*, 1999).

Por otro lado, se encuentra el cultivo *in vitro*, para lo cual se realiza un homogenizado de cerebro de terneros y vacas, con tripsina, que es cultivado en monocapas de células vero (Yamane *et al.*, 1997). Estos cultivos son revisados diariamente durante 60 días (Stenlund *et al.*, 1997) y el medio es cambiado dos veces a la semana (kyaw *et al.*, 2005).

#### **b. Histopatología**

La histopatología, realizada en tejidos es una técnica de diagnóstico relevante en las infecciones por *N. caninum*. En este caso, el diagnóstico es basado en la presencia de lesiones características del parásito como meningoencefalitis necrotizante multifocal (MENM), miocarditis, miositis, nefritis, hepatitis, neumonía y adrenalitis focales no supurativas caracterizadas por la presencia de células mononucleares (Anderson *et al.*, 2000). La presencia del parásito en dichas lesiones puede confirmarse mediante IHQ.

Aunque su sensibilidad es baja, probablemente debido a los escasos parásitos presentes en tejidos autolizados, resulta una técnica diagnóstica vigente (Anderson *et al.*, 2000).

#### **c. Inmunohistoquímica (IHQ)**

La inmunohistoquímica (IHQ) es la técnica mas usada para demostrar la presencia de *Neospora* en los tejidos (Lindsay y Dubey, 1989).

Los casos de abortos asociados a *N. caninum*, son mayormente diagnosticados en base a la detección de lesiones características combinado con técnicas inmunohistoquímicas que demuestren la presencia del parásito en tejido fetales (Wouda

*et al.*, 1997a), debido a que mayormente la presencia de *N. caninum* en tejido autolizado no es visible ante las tinciones con H-E.

En las técnicas inmunohistoquímicas pueden emplearse tanto anticuerpos específicos monoclonales o policlonales de *N. caninum* (Cole *et al.*, 1994; Lindsay y Dubey, 1989). Sin embargo, algunos autores mencionan que el método inmunohistoquímico es laborioso y debido a que solo algunos parásitos de *N. caninum* pueden estar presentes en los tejidos, el método es considerado de baja sensibilidad (Wouda *et al.*, 1997b. Dubey, 2003).

#### **d. Reacción de la Cadena de Polimerasa (PCR)**

En la actualidad la PCR ha probado ser una herramienta útil para la detección de ADN del parásito (Sager *et al.*, 2001), por lo cual la mayoría de análisis diagnósticos para la neosporosis incluyen algunas PCRs, las cuales emplean muestras de animales muertos para el diagnóstico (Eperon *et al.*, 1999; Okeoma *et al.*, 2005).

Sin embargo, la detección de ADN del parásito en muestras de animales vivos infectados naturalmente pueden también ser diagnosticadas (Okeoma *et al.*, 2004b). Así el estudio realizado por Okeoma *et al.* (2005), utilizando PCR en tiempo real, en abortos infectados y novillas gestantes, mostró que existe una mayor concentración de ADN parasitario en el cerebro, comparado con la sangre. Este estudio además manifestó el empleo de PCR como herramienta útil para determinar la epidemiología y patogénesis de las infecciones por *N. caninum*.

La ventaja de esta técnica es su elevada especificidad y sensibilidad y la capacidad de amplificar pequeñas cantidades de ADN de *N. caninum* en una gran variedad de tejidos. Sin embargo el PCR no es una técnica de rutina por su costo (Dubey, 1999).



### **III. NEOSPOROSIS EN EL PERÚ: Revisión actualizada de los estudios realizados en nuestro país**

El primer reporte de *Neospora caninum* en bovinos lecheros de nuestro país, data del año 1997, en el cual debido a una encuesta realizada en el valle de Arequipa, en explotaciones intensivas de ganado lechero, se detectó una tasa de aborto que variaba entre el 15 y 25%, motivo por el cual se muestrearon animales con la finalidad de determinar la participación del Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVD), anteriormente reportado en este ganado, *N. caninum* y *Leptospira*. Fueron muestreados 104 vacas, procedentes de 14 establos lecheros. El análisis de las muestras estuvo a cargo de la Dra. Hermelinda Rivera, del Laboratorio de Microbiología y Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los resultados mostraron una prevalencia a *N. caninum* de 57%. Todos los establos presentaron al menos un animal seropositivo, mediante la prueba de IFI. Posteriormente, en 1998, debido a los resultados obtenidos en Arequipa, se realizó un estudio en ganado procedente de la cuenca lechera de Lima. Para lo cual fueron examinados 173 vacas, procedentes de 19 establos lecheros, encontrándose una prevalencia de 27%. 18 de los 19 establos muestreados presentaron al menos un animal seropositivo al *N. caninum*. Los resultados de los estudios fueron publicados por Andresen, en 1999.

Desde entonces los estudios realizados en nuestro país, han sido presentados en revistas de investigación, dándose a conocer su presencia en bovinos, mediante estudios serológicos, inmunohistoquímicos y moleculares. Así mismo, debido a la amplia variedad de especies a las que el parásito afecta, los estudios también fueron dirigidos a

determinar su presentación en Camélidos Sudamericanos (CSA) de nuestro país, debido a ello, se realizó el primer reporte de *N. caninum* en CSA, reportes que demostraron tanto la presencia de anticuerpos en suero de alpacas, llamas y vicuñas, así como la presencia del parásito en tejidos de fetos abortados.

A continuación se presenta un resumen de los estudios realizados en bovinos, caninos y camélidos sudamericanos de nuestro país, según orden de aparición.

### **3.1. Evidencia serológica e identificación de *N. caninum* en bovinos y fetos abortados de bovinos del Perú**

Después de los reportes encontrados en la publicación de Andresen (1999), Cabrera *et al.*, en el 2000, realizan el reporte de *N. caninum* en ganado lechero de Cajamarca, encontrando anticuerpos contra el parásito, en el 43 y 10.5% de vacunos con y sin problemas reproductivos, respectivamente. En el mismo año, Rivera *et al.* detectaron la presencia de quistes de *N. caninum* en 16 de 29 fetos abortados, estudio que confirmaba la presencia del *N. caninum* en el país, como causa de abortos en vacas lecheras del valle de Lima (Rivera *et al.*, 2000).

Posteriormente un estudio realizado por Silva *et al.* (2002) en el valle de Lima, abarcando dos zonas: norte y sur, la primera comprendida entre los kilómetros 0 y 150 de la Carretera Panamericana Norte, hasta la provincia de Huacho y la segunda comprendida entre los kilómetros 0 y 150 de la Carretera Panamericana Sur, hasta la provincia de Cañete, reportó la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en 29.6% de 304 muestras evaluadas, mediante la prueba de IFI, con un punto de corte de 1:200. En este último estudio todos los establos presentaron reacción positiva, con prevalencias que variaron entre 3.3 a 64.7%; asimismo se observó que existía una mayor prevalencia del parásito en los establos lecheros ubicados en la zona norte de muestreo (Cuadro 4).

En el mismo año, Linares (2002), publicó los resultados de un estudio realizado en 8 fundos ganaderos de la Campiña de Cajamarca, en el cual confirma la transmisión vertical del parásito, mediante el análisis de sueros de vacas y sus crías. El muestreo y diagnóstico fue realizado durante los meses de Junio a Diciembre del 2001, evaluándose

un total de 152 muestras de sueros, correspondientes a 76 vacas y sus respectivas crías, estas últimas fueron muestreadas al nacimiento, antes de ingerir el calostro. La técnica empleada fue ELISA, en las presentaciones de dos laboratorios: Mast Diagnostics y HerdCheck® Anti-*Neospora*, de IDEXX USA), para la detección de anticuerpos contra *N. caninum* empleando las diluciones de 1:400 y 1:100, respectivamente. Los resultados mostraron una prevalencia a anticuerpos contra *N. caninum* en el 40.8 y 22.4% de las vacas y crías muestreadas, respectivamente (Cuadro 5); asimismo determinó un porcentaje de transmisión vertical de 54.8%.

En el 2003, Quevedo *et al.*, publicaron los resultados de un estudio realizado en ganado lechero criado al pastoreo, en los distritos de Molinopampa y Leymebamba, provincia de Chachapoyas, Amazonas. El muestreo fue realizado en el mes de abril del 2002, donde se evaluaron 265 bovinos lecheros de la raza Brown Swiss, criados en sistemas extensivos y distribuidos en 24 fundos, de las cuales 13 pertenecían al distrito de Molinopampa y 11 al de Leymebamba. La prueba empleada fue IFI, con un punto de corte de 1:200. Los resultados indicaron la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en 40.41% (107/265) de las muestras evaluadas, siendo más prevalente en el distrito de Molinopampa. Todos los fundos presentaron al menos un animal positivo (Cuadro 6). El estudio confirmó la presencia de *N. caninum* en bovinos lecheros de fundos ubicados en los distritos de Molinopampa y Leymebamba en Amazona.

En el mismo año, Ecurra (2003), publica los resultados de su estudio realizado en vacunos de un hato ganadero de crianza extensiva, de la Campiña de Baños del Inca, en el Departamento de Cajamarca, en el cual se evaluaron 74 sueros de vacunos, mediante un kit de IFI (Laboratorio VMRD, USA), empleando la dilución de 1:200. El estudio determinó una prevalencia de 45.9% a *N. caninum*.

En el 2004, se reporta la presencia de *Neospora* en 1.5% de 268 bovinos cebú y cruces, muestreados en el año 2002 en el Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura de Pucallpa, departamento de Ucayali. Sin embargo, el mismo año de publicación es llevado a cabo un estudio en los distritos de Campo Verde e Irazola, pertenecientes a Ucayali, encontrándose elevadas prevalencias de 50.25 y 40.28%, respectivamente (Casas, E. comunicación personal).

En el 2005, Atocsa *et al.*, publicaron los resultados de un estudio realizado en ganado lechero criado al pastoreo, en la provincia de Melgar, departamento de Puno. El muestreo fue realizado entre los meses de octubre del 2001 y marzo del 2002, donde se evaluaron 419 bovinos distribuidos en siete fundos ganaderos. La prueba empleada fue IFI, con un punto de corte de 1:200. Los resultados indicaron la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en 18.1% (76/419) de las muestras evaluadas. Todos los fundos presentaron reacción positiva, con prevalencias que variaron entre 4.0 a 37.5% (Cuadro 7). De los resultados obtenidos en aquel entonces, se pudo observar mayor prevalencia en fundos que acostumbraban tener al hospedero definitivo en las zonas de pastoreo. El estudio confirmó la presencia de *N. caninum* en bovinos lecheros criados al pastoreo en la provincia de Melgar, Departamento de Puno.

En el 2006, Puray *et al.*, publican los resultados de un estudio llevado a cabo en bovinos lecheros de la Unidad de Producción Corpacancha, perteneciente a la empresa de Sociedad Agrícola de Interés Social (SAIS) Pachacutec, ubicada en el distrito de Marcapomacocha, departamento de Junín. El muestreo fue realizado entre los meses de marzo a abril del 2003, evaluándose 347 sueros de bovinos, mediante la técnica de IFI, con un punto de corte de 1:200. Los resultados indicaron la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en 12.8% (45/347) de las muestras evaluadas, los cuales variaron desde 2.6% hasta 20.2% (Cuadro 8). El estudio confirmó la presencia de *N. caninum* en bovinos del departamento de Junín.

En el mismo año, Torres (2006), publica los resultados de su estudio realizado en vacunos de la provincia de Chota, en el Departamento de Cajamarca. El diagnóstico de las muestras fue realizado entre los meses de Octubre y Diciembre del 2004, evaluándose 174 sueros de vacunos hembras, mediante la técnica de ELISA (HerdCheck® Anti-*Neospora*. Laboratorios IDEXX USA), empleando la dilución 1:100, según indicaciones del fabricante. El estudio determinó una prevalencia total de 39.08%; mientras que las prevalencias para los grupos etareos de vacas, vaquillonas y terneras fue de 44.6, 34.3 y 31.2%, respectivamente (Cuadro 9). El estudio determinó que aún cuando la prevalencia se incrementaba a medida que aumentaba la edad de los

animales, no se encontró diferencia estadística significativa en los resultados hallados por grupo etareo.

**Cuadro 4.** Seroprevalencia de *N. caninum* en establos lecheros del Valle de Lima.

<b>Zona de Lima</b>	<b>N° Establos</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>
Norte	12	120	49	40.8 ± 8.8
Sur	7	184	41	22.3 ± 6.0
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>304</b>	<b>90</b>	<b>29.6 ± 5.1</b>

Silva *et al.*, 2002.

**Cuadro 5.** Número y porcentaje de vacas y crias seropositivas a anticuerpos anti *N. caninum*, mediante la prueba de ELISA, Cajamarca.

<b>Estrato etareo</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%)</b>
Vacas	76	31	40.8
Crias	76	17	22.4

Linares, 2002.

**Cuadro 6.** Seroprevalencia de *N. caninum* en dos distritos de la provincia de Chachapoyas, Amazonas.

<b>Distrito</b>	<b>N° hatos</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>
Leymebamba	11	150	55	36.7 ± 6.5
Molinopampa	13	115	52	45.2 ± 7.7
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>265</b>	<b>107</b>	<b>40.4 ± 5.0</b>

Quevedo *et al.* 2003.

**Cuadro 7.** Seroprevalencia de *N. caninum* en bovinos criados al pastoreo en la provincia de Melgar, Puno.

<b>Fundos</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>
Chuquibambilla	64	24	37.5
Macedo	93	19	20.4
Chuccamaru	31	5	16.1
Santa María	164	23	14.0
Cangalli	22	3	13.6
Santa Elena	20	1	5.0
La Raya	25	1	4.0
<b>Total</b>	<b>419</b>	<b>76</b>	<b>18.1 ± 3.7</b>

Atocsa *et al.*, 2005.

**Cuadro 8.** Seroprevalencia de *N. caninum* en vacas de la comunidad de Corpacancha de la SAIS Pachacutec, Junín.

<b>Hatos</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>
Capcash	40	1	2.6
Picuycancha	55	6	11.2
Cuspicancha	54	6	11.4
Ordenal	46	9	20.2
Tintán	45	8	18.3
Pariacancha	52	5	9.9
Ucrucancha	55	10	18.9
<b>Total</b>	<b>347</b>	<b>45</b>	<b>13.2 ± 3.5</b>

Puray *et al.*, 2006.

**Cuadro 9.** Porcentaje de vacas, vaquillonas y terneras seropositivas a *N. caninum*, mediante la prueba de ELISA, Cajamarca.

<b>Estrato etareo</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%)</b>
Vacas	94	42	44.6
Vaquillas	32	11	34.3
Vaquillonas	48	15	31.2
<b>Total</b>	<b>174</b>	<b>68</b>	<b>39.08</b>

Torres, 2006.

**Cuadro 10.** Resumen de seroprevalencias de *N. caninum* en bovinos del Perú.

<b>Procedencia</b>	<b>N° de Muestras</b>	<b>Prevalencia (%)</b>	<b>Referencia</b>
Arequipa	104	57	Andresen, 1999
Lima	173	27	Andresen, 1999
Cajamarca		42.9	Cabrera <i>et al.</i> , 2000
Lima*	29	55.2	Rivera <i>et al.</i> , 2000
Lima	304	29.6	Silva <i>et al.</i> , 2002
Cajamarca	76	40.8	Linares, 2002
Cajamarca	76	22.4	Linares, 2002
Amazonas	265	40.4	Quevedo <i>et al.</i> , 2003
Cajamarca	74	45.95	Escurra, 2003
Ucayali	268	1.5	Rivera <i>et al.</i> , 2004
Ucayali		50.25	Casas, E. 2004.
		40.28	Comunicación personal

Puno	419	18.1	Atocsa <i>et al.</i> , 2005
Junín	347	12.8	Puray <i>et al.</i> , 2006
Cajamarca	174	39.08	Torres, 2006

\*, estudios realizados en fetos abortados.

### 3.2. Evidencia serológica de *N. caninum* en caninos del Perú

Después de los reportes realizados en ganado lechero de nuestro país, y debido a la determinación del perro como hospedero definitivo del *N. caninum*, surgió el interés por determinar su presencia en perros procedentes de establos lecheros. Así en el 2003, Del Campo *et al.*, publican los resultados de un estudio realizado en perros de establos lecheros del valle de Lima, evaluando 104 muestras de perros mayores a 3 meses de edad, procedentes de 23 establos lecheros ubicados en la zona norte y sur de Lima, por la técnica de IFI, con un punto de corte de 1:50. Los resultados mostraron que el 32.7% de las muestras fueron positivas, encontrándose mayor seropositividad en perros que vivían en la zona norte del área del muestreo (Cuadro 11). Dichos resultados mostraron concordancia con los resultados obtenidos por Silva *et al.* (2002) en bovinos procedentes de establos lecheros del valle de Lima.

En el mismo año, Horna *et al.*, publican los resultados de un estudio realizado en 142 caninos de los distrito de Molinopampa y Leymebamba, de la provincia de Chachapoyas, departamento de Amazonas. Las muestras fueron colectadas en el mes de junio del 2002, y fueron evaluadas mediante la técnica de IFI, con un punto de corte de 1:50. De las muestras analizadas, el 28.9%±7.5% fueron positivas, encontrándose mayor prevalencia en los caninos procedentes del distrito de Molinopampa (Cuadro 12). Los elevados resultados de este estudio mostraron concordancia con los resultados del estudio realizado por Quevedo *et al.* (2003) en bovinos lecheros, procedentes de los distrito de Molinopampa y Leymebamba.



En el 2004, Cornejo *et al.*, publican los resultados de un estudio realizado en 124 caninos, procedentes de 24 establos lecheros de la cuenca izquierda del valle del Mantaro, en las provincias de Huancayo, Jauja y Concepción, departamento de Junín. Las muestras fueron colectadas entre los meses de agosto a octubre del 2002, las cuales fueron analizadas mediante la técnica de IFI, con un punto de corte de 1:50. De las muestras analizadas, el 19.4% fueron positivas al *N. caninum* (Cuadro 13). Los resultados de este estudio, mostraron concordancia con estudios realizados en bovinos de establos lecheros de las provincias de Huancayo, Jauja y Concepción, departamento de Junín (E. Casas, comunicación personal).

**Cuadro 11.** Frecuencia de positividad a *N. caninum* en perros procedentes de establos lecheros del Valle de Lima.

<b>Lugar</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Frecuencia (%±IC)</b>
Huaura-Huaral	17	10	58.8
Lima Norte	32	8	25.0
Lima Sur	33	9	27.3
Cañete	22	7	31.8
<b>Total</b>	<b>104</b>	<b>34</b>	<b>32.7 ± 9.0</b>

Del Campo *et al.*, 2003.

**Cuadro 12.** Seroprevalencia de *N. caninum* en caninos de dos distritos de la provincia de Chachapoyas, Amazonas.

<b>Distrito</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>
Molinopampa	63	22	34.9 ± 11.8
Leymebamba	79	19	24.1 ± 9.4
<b>Total</b>	<b>142</b>	<b>41</b>	<b>28.9 ± 7.5</b>

Horna *et al.* 2003.

**Cuadro 13.** Seroprevalencia de *N. caninum* en caninos relacionados con establos lecheros del departamento de Junín.

<b>Lugar</b>	<b>N° establos</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Frecuencia (%±IC)</b>
Huancayo	10	53	9	17.0
Jauja	9	41	6	14.6
Concepción	5	30	9	30.0
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>124</b>	<b>24</b>	<b>19.4 ± 7.0</b>

Cornejo *et al.*, 2004.

**Cuadro 14.** Frecuencia de *Neospora caninum* en perros pastores procedentes de cinco sectores de producción de la empresa Rural Alianza- Puno.

<b>Procedencia</b>	<b>Animales muestreados</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Frecuencia (%)</b>
Alianza	38	3	7.89
Antacalla	19	1	5.26
Accopujio	17	3	17.65
Conchatanca	40	10	25
San Francisco	8	1	12.5
<b>Total</b>	<b>122</b>	<b>18</b>	<b>14.75± 6.29</b>

Vega, 2007.

**Cuadro 15.** Resumen de seroprevalencias de *N. caninum* en caninos del Perú.

<b>Procedencia</b>	<b>N° de Muestras</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>	<b>Referencia</b>
Lima	104	32.7±9.0	Del Campo <i>et al.</i> , 2003
Amazonas	142	28.9±7.5	Horna <i>et al.</i> , 2003
Junín	124	19.4±7.0	Cornejo <i>et al.</i> , 2004
Puno	122	14.75± 6.29	Vega, 2007

En el 2007, Vega publica los resultados de un estudio realizado en perros pastores, procedentes de cinco zonas de producción de la empresa Rural Alianza, en el Departamento de Puno, en el cual se analizaron 122 muestras de suero, recolectadas entre los meses de febrero y marzo del 2004. La prevalencia hallada mediante la técnica de IFI fue 14.75% (Cuadro 14), empleando un punto de corte de 1:50. Aún cuando la prevalencia hallada fue moderada, los resultados mostraron la existencia de relación entre la presencia del hospedero definitivo y la seropositividad en el ganado, debido a que los perros muestreados en aquel estudio, procedían de zonas en las cuales anteriormente se había reportado la presencia de bovinos y camélidos sudamericanos seroreactores al parásito.

### **3.3. Evidencia serológica e identificación de *N. caninum* en adultos y fetos abortados de Camélidos Sudamericanos del Perú**

El primer reporte de Camélidos Sudamericanos del Perú, fue publicado en el 2002, por Chávez *et al.*, quienes con la finalidad de determinar la implicancia del *N. caninum* en CSA, llevaron a cabo un estudio que incluyó la participación del grupo de Investigación de la Facultad de Veterinaria, UNMSM y de la Universidad Complutense de Madrid. Se realizó el muestreo en alpacas y llamas pertenecientes a diversas comunidades y empresas alpaqueras de la zona centro y sur del país, las cuales fueron analizadas mediante la técnica de IFI, para la detección de anticuerpos contra *N. Caninum*, a un punto de corte de 1/50. Los resultados preliminares del estudio mostraron que el 42.4% (39/92) de alpacas y 18.4% (39/212) de llamas analizadas fueron positivas a *N. caninum*.

En el 2003, Moya *et al.*, publican los resultados de un estudio realizado en llamas hembras, del Centro Experimental de Machuwasi de la Universidad San Antonio Abad del Cuzco y en el fundo San Luis del Instituto de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA) de la UNMSM, localizados en la provincia de Melgar, departamento de Puno. Se evaluaron 275 sueros de llamas hembras, mediante la técnica de IFI, utilizada por Trees *et al.* (1993), y modificada en los Laboratorios de Parasitología de la Universidad Complutense de Madrid y la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM, con un punto de corte de 1:50. Los resultados del estudio indicaron la

presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en 16.7% (46/275) de las muestras evaluadas (Cuadro 15). Todos los fondos presentaron reacción positiva. El estudio confirmó la presencia de *N. caninum* en llamas hembras de la provincia de Melgar, Puno.

En el mismo año, Rosadio *et al.*, publican los resultados de un estudio realizado en la provincia de Canchis, en Cuzco, para la detección de agentes abortigénicos en alpacas, donde la seroprevalencia hallada al *N. caninum*, fue de 2.5% (Rosadio *et al.*, 2003).

En el 2004, Serrano *et al.*, hicieron el primer reporte de *N. caninum* en fetos abortados de CSA. El estudio fue realizado en 15 fetos abortados de llamas y alpacas, cuyas edades variaron entre los siete y ocho meses de gestación. En aquel estudio, muestras de cerebro, fueron analizadas mediante las técnicas de histopatología, inmunohistoquímica y PCR. La infección por *N. caninum* fue confirmada en tres fetos (dos alpacas y una llama). Los resultados del estudio sugirieron que especies de *Neospora* pueden infectar llamas y alpacas, pudiendo ser además causa de aborto en estas especies. Posteriormente, se publicaron los resultados de un estudio realizado en 50 fetos abortados de CSA domésticos, en el cual se logró identificar la presencia del *N. caninum* en el 38% (19/50) de las muestras analizadas, utilizándose las técnicas de diagnóstico empleadas en el estudio anterior (Serrano, 2005).

Así también en el 2005, un estudio llevado a cabo empleando muestras serológicas de alpacas y llamas procedentes de Perú y Alemania, mostró reacción seropositiva al *N. caninum*, empleando las diluciones de 1:25 y 1:50. (Wolf *et al.*, 2005).

En el 2006, Casas *et al.*, publican los resultados de un estudio realizado en llamas hembras, pertenecientes a las unidades de producción de Corpacancha, Cuyo y Santa Ana de la Sociedad Agraria de Interés Social Pachacútec, localizadas en la provincia de Yauli, departamento de Junín. El muestreo fue realizado entre los meses de enero a marzo del 2003, evaluándose 175 sueros de llamas hembras, mediante la técnica de IFI, utilizada por Trees *et al.* (1993), y modificada en los Laboratorios de

Parasitología de la Universidad Complutense de Madrid y la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM, con un punto de corte de 1:100. Los resultados indicaron la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en 2.9% (5/175) de las muestras evaluadas (Cuadro 16). El estudio confirmó la presencia de *N. caninum* en llamas hembras de la sierra central del país.

En el 2007, se publicaron los resultados de un estudio realizado en fetos abortados de CSA procedentes de la sierra central y sur del país. Las técnicas empleadas fueron histopatología, inmunohistoquímica y PCR. De 50 muestras analizadas, 13 resultaron positivas a histopatología, por lesiones compatibles con *N. caninum*, y 14 resultaron positivas mediante las técnicas de IHQ y PCR. Los resultados del estudio indicaron que la neosporosis puede ser incluida dentro del diagnóstico diferencial de abortos en alpacas y llamas (Serrano-Martínez *et al.*, 2007).

**Cuadro 16.** Seroprevalencia de *N. caninum* en llamas hembras de dos fundos ganaderos en la provincia de Melgar, Puno.

<b>Distrito</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>
San Luis	189	42	22.2 ± 5.9
Machuwasi	86	4	4.7 ± 4.5
<b>Total</b>	<b>275</b>	<b>46</b>	<b>16.7 ± 4.4</b>

Moya *et al.*, 2003.

**Cuadro 17.** Seroprevalencia de *N. caninum* en llamas hembras en edad reproductiva de la empresa ganadera SAIS Pachacutec, Junín.

<b>Unidad de Producción</b>	<b>Muestras</b>	<b>Animales seropositivos</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>
Cuyo	88	0	0
Santa Ana	69	5	7.3±6.1
Corpacancha	18	0	0
<b>Total</b>	<b>175</b>	<b>5</b>	<b>2.9 ± 2.5</b>

Casas *et al.*, 2006.

**Cuadro 18.** Resumen de seroprevalencias de *N. caninum* en Camélidos Sudamericanos Domésticos del Perú.

<b>Especie</b>	<b>Procedencia</b>	<b>N° de Muestras</b>	<b>Prevalencia (%±IC)</b>	<b>Referencia</b>
Alpacas	Sierra central	92	42.4	Chávez <i>et al.</i> , 2002
	Cuzco		2.53	Rosadio <i>et al.</i> , 2003
	Puno*	6	33.3	Serrano-Martínez <i>et al.</i> , 2004
Llamas	Sierra central	212	18.4	Chávez <i>et al.</i> , 2002
	Puno	275	16.7 ± 4.4	Moya <i>et al.</i> , 2003
	Puno*	9	11.1	Serrano-Martínez <i>et al.</i> , 2004
	Junín	175	2.9 ± 2.5	Casas <i>et al.</i> , 2006

\*, estudios realizados en fetos abortados.

## IV. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL

Diversos estudios de investigación han sido realizados, con la finalidad de establecer medidas de prevención y control, tratamientos e inmunoprofilaxis ante la presentación de *N. caninum* en el ganado.

### 4.1. Prevención y control

La prevención y control, debe estar dirigida al cuidado tanto en el hospedero definitivo como el intermediario:

1. Evitar el acceso de los perros a las áreas de almacén del alimento, así como a fuentes de agua. Estudios realizados por Anderson (2000) y Dijkstra *et al.* (2002), mostraron relación entre hatos con problemas reproductivos y la presencia del perro, debido al consumo de placenta, de los fetos abortados o descargas uterinas, o a la defecación en comederos o almacenes.
2. Recolectar y eliminar fetos abortados y placentas para evitar la infección del hospedero definitivo (Thurmond y Hietala, 1995).
3. Realizar un descarte serológico a todo animal que ingrese al hato, con la finalidad de evitar el ingreso de la infección (Moore *et al.*, 2001).
4. Si se detecta un hato seropositivo, determinar la fuente de infección del parásito y las rutas de transmisión (Dubey *et al.*, 2007).

5. Realizar controles sanitarios en el ganado, durante un manejo reproductivo tecnificado como lo es la inseminación artificial (IA) y la transferencia de embriones (TE), resulta conveniente para evitar la transmisión vertical del *N. caninum* (Thurmond y Hietala, 1995; Baillargeon et al., 2001; Campero *et al.*, 2003; Dubey *et al.*, 2007).
  - a. Emplear receptoras seronegativas, en establecimientos que realicen la TE (Moore *et al.*, 2001).
  - b. Realizar análisis serológicos de rutina al ganado (cuadro 3), con la finalidad de detectar animales seropositivos y realizar su paulatino descarte (Thurmond y Hietala, 1995, Moore *et al.*, 2001). .
  - c. Diagnósticos serológicos en terneros precalostrales (Dra Lourdes Porquet Garanto, comunicación personal); detectarían la ocurrencia de transmisión vertical; tal es el caso del CIVTEST BOVIS *NEOSPORA* de Laboratorios HIPRA (España),
6. En hatos con problemas de aborto, realizar el diagnóstico serológico en hembras que abortaron; así como el descarte de la presencia del parásito en órganos del feto abortado (Dubey *et al.*, 2007).
7. Realizar programas sobre control de roedores y otras especies potenciales de ser hospederos intermediarios del parásito (Lindsay *et al.*, 1999b).

Por otro lado, un estudio realizado por Häsler *et al.* (2006) propuso determinar la forma de control de la neosporosis más eficaz en diversos hatos de ganado lechero Suizo, para lo cual se estudiaron 4 modelos de control:

- 1) Examen y saca del ganado seropositivo.
- 2) Discontinuidad de la crianza de descendientes de vacas seropositivas.
- 3) Tratamiento quimioterapéutico de terneros de madres seropositivas.
- 4) Vacunación de ganado susceptible e infectado.

De los cuales, encontró mayor eficacia de reducción de la infección por *Neospora*, empleando el primer modelo de examen y saca de animales seropositivos en el primer año de seguimiento (de 12% a menos de 1%); cabe mencionar que este modelo fue sugerido en un estudio anteriormente realizado por French *et al.*, (1999) y el impacto



económico que este pudiese tener fue sugerido en un estudio realizado por Larson *et al.* (2004) en el cual determinaron que el diagnóstico de animales infectados por *N. caninum* en la totalidad del ganado y la exclusión de la crianza, de las hijas de madres seropositivas, podía proveer de un mejor retorno económico al hato. Asimismo, aún cuando los otros modelos empleados también mostraron reducción de la infección en periodos largos, esta no fue controlada en un 100% debido a que los modelos empleados no tomaron en cuenta el control de la transmisión horizontal (Häsler *et al.*, 2006).

#### **4.2. Tratamiento**

Actualmente no existe tratamiento 100% efectivo contra la infección por *N. caninum*. La mayoría de los resultados de eficacia de fármacos frente a *N. caninum*, proceden de estudios *in vitro* (Lindsay *et al.*, 1994), por lo que su aplicación práctica, no ha sido muy difundida. De un total de 43 sustancias probadas, 17 ocasionaron una reducción total del número de taquizoítos cultivados *in vitro* (Lindsay *et al.*, 1994).

Hasta la actualidad se han evaluado antibióticos ionóforos (lasolacid, maduramicina, monensina, narasin y salinomicina), macrólidos (eritromicina o la azitromicina), tetraciclinas (Lindsay *et al.*, 1994). Dentro de las drogas más efectivas se encuentra la clindamicina, diclazuril, robenidina y pyrimethamina. Así también, se menciona el empleo del toltrazuril y ponazuril, los cuales son derivados de una droga llamada triazinona utilizada en el tratamiento de las coccidiosis en mamíferos. Al respecto, un estudio de tratamiento experimental quimioterapéutico fue llevado a cabo empleando la medicación con Toltrazuril en ratones hembras C57/BL6, encontrándose una considerable reducción del pasaje diaplacentar del parásito al cerebro del feto (Gottstein *et al.*, 2001, 2005). Por otro lado, un estudio explorativo empleando el Toltrazuril-sulfone (Ponazuril) mostró una eficacia básica de la intervención quimioterapéutica contra *N. caninum* en terneros experimentalmente infectados (Kritzner *et al.*, 2002).

En el caso de los caninos, la neosporosis neonatal canina caracterizada por paresias y parálisis del tren posterior, puede ser tratada con clindamicina oral en dosis

de 12.5 a 18.5 mg/kg p.v. suministrada dos veces por día durante 2 a 4 semanas. También resulta eficaz la combinación de pyrimethamina y sulfonamidas en dosis de 0.25 a 0.5 y 30 mg/kg p.v., respectivamente cada 12 horas en forma oral durante 4 semanas (Lindsay *et al.*, 1999c). Sin embargo, este tratamiento no previene que el hospedero definitivo elimine el ooquiste del parásito.

#### **4.3. Inmunopprofilaxis**

En 1999, laboratorios Bayer probó una vacuna, utilizando un nivel de dosaje de taquizoítos derivados de 2 diferentes cultivos tisulares. Las vacas en estudio, seroconvirtieron eficazmente post-infección; sin embargo, el uso de la vacuna, aun no ha sido muy difundida como medio de protección contra abortos (Bayer, 1999).

Por otro lado, una vacuna inactivada a base de protozoos muertos ha sido desarrollada por Laboratorios Intervet (NeoGuard<sup>TM</sup> and Bovilis Neoguard®), para su aplicación en el ganado y se encuentra comercialmente disponible tanto en América del Norte, Centro y Sur; así como en Nueva Zelanda, sugiriéndose su seguridad para el uso en vacas gestantes. Sin embargo, los resultados de diversos estudios aprueban y desaprueban su eficacia; al respecto, en Costa Rica y Nueva Zelanda estudios de campo fueron conducidos para examinar la eficacia de esta vacuna, encontrando que la vacuna redujo el aborto en 39 y 50%, respectivamente (Heuer *et al.*, 2004; Romero *et al.*, 2004); contrariamente a estos resultados, otros estudios realizados por Andrianarivo *et al.* (2000) e Innes *et al.* (2002) reportaron fallas de la vacuna para conferir protección del hato contra el aborto, por lo cual aún queda en duda la aplicabilidad de esta vacuna.

Otro estudio sugirió el empleo de una combinación de una proteína de superficie (NcSRS2) y una proteína de gránulo denso (NcDG1), para contrarrestar la infección por *N. caninum*. Los resultados del estudio realizados *in vitro* e *in vivo* sugieren que la combinación es ideal para el desarrollo de vacunas contra *N. caninum* (Cho *et al.*, 2005).

Sin embargo, el empleo de vacunas vivas o atenuadas ocasiona en cierta forma algunas desventajas. En el caso de las vacunas vivas, su aplicación en el hospedero produciría la replicación del protozoo dentro de las células, ocasionando que el antígeno parasitario sea presentado con antígenos del CMH (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) clase I quedando satisfecha la estimulación de linfocitos T CD8+, los cuales son importantes en los mecanismos de protección (Kaspar y Khan, 1998), existiendo graves desventajas con su uso por la posibilidad de ocasionar infección crónica y transmisión vertical persistente en el ganado inmunizado (Moore *et al.*, 2005). Por otro lado, al aplicar una vacuna inactivada, por ejemplo taquizoítos de *N. caninum*, se estaría estimulando el procesamiento de un antígeno exógeno; contrariamente a lo que sucede ante la enfermedad natural, en la cual se genera el procesamiento de antígenos endógenos por ser *N. caninum* un parásito intracelular obligado, siendo de esta manera disímil la respuesta celular generada (Moore *et al.*, 2005).

Asimismo, se recomienda el uso apropiado de adyuvante en la elaboración de vacunas inactivadas, lo cual aseguraría la inocuidad de estas con un buen desarrollo de respuesta inmune (Moore *et al.*, 2005).

Finalmente, cabe mencionar que los inmunógenos comerciales ocasionan la producción de anticuerpos anti-*N. caninum* los cuales no pueden ser diferenciados de aquellos producidos en infecciones naturales, por lo cual el empleo de la vacuna causa controversia cada vez que dentro de las formas de prevención en un hato, figura la detección serológica de animales seropositivos para su control y paulatino descarte (Thurmond y Hietala, 1995).

#### **4.4. Situación Actual de las medidas de prevención y control de *N. caninum* en el Perú.**

En nuestro país, se ha reportado la presencia de *N. caninum* en diversos sistemas de producción de ganado bovino. Sin embargo, las medidas de prevención y control ante la presentación del parásito son aplicadas dependientes del grado de conocimiento

de la enfermedad, tipo de explotación realizado y del nivel de tecnología con la que cuenta cada hato.

De la información recopilada, sobre las muestras de suero bovino remitidas al laboratorio de Parasitología Veterinaria, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, se pudo observar que algunos ganaderos del país, realizan el descarte serológico de *N. caninum* en el ganado, que va a ser adquirido o que será destinado a la venta, ya que las ganaderías que tienen conocimiento del parásito exigen que el ganado que ingrese a su hato, esté libre de esta infección. Así también, algunos hatos realizan el descarte serológico del parásito, en época reproductiva, o madres receptoras, cuando realizan la TE.

El descarte serológico de *N. caninum*, realizado hasta el momento, en nuestro país, es mediante las técnicas de Inmunofluorescencia indirecta y ELISA, este último empleando kits comerciales (Laboratorios VMRD USA y IDEXX USA).

Por otro lado, el diagnóstico mediante la detección del parásito en fetos abortados o placenta no es una técnica de diagnóstico rutinario en el país, y el costo del diagnóstico mediante las técnicas de IFI y ELISA son moderadamente elevados, motivo por el cual no están al alcance de ganaderos de escasos recursos económicos. Esto, aunado al escaso conocimiento que los ganaderos de hatos pequeños tienen sobre el parásito y de las repercusiones que ocasiona en el ganado, facilitan la propagación de la enfermedad.

## **V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

- En nuestro país solo existen estudios que determinan la presencia de *N. caninum* en bovinos, CSA y caninos.
- Existen variadas alternativas de tratamiento y control que no ofrecen 100% de eficacia.
- Es necesario contar con mayores estudios que determinen la presencia del parásito en otras especies tales, como ovinos y caprinos.

## V. BIBLIOGRAFÍA

**Álvarez-García G, Collantes-Fernández E, Costas E, Rebordosa X, Ortega-Mora LM. 2003.** Influence of age and purpose for testing on the cut-off selection of serological methods in bovine neosporosis. *Vet Res* 34: 341-352.

**Anderson M, Blanchard P, Barr B, Dubey JP, Hoffman R, Conrad P. 1991.** *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 198: 241-244.

**Anderson ML, Palmer CW, Thurmond MC, Picanso JP, Blanchard PC, Breitmeyer RE, Layton AW, McAllister M, Daft B, Kinde H, Read DH, Dubey JP, Conrad PA, Barr BC. 1995.** Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J Am Vet Med Assoc* 207: 1206-1210.

**Anderson ML, Reynolds JP, Rowe JD, Sverlow KW, Packham AE, Barr BC, Conrad PA. 1997.** Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 210: 1169-1172.

**Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. 2000.** Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci* 60/61: 417- 431.

**Andresen H. 1999.** Neosporosis en el Perú y el Mundo. Rev Cien Vet Perú 15 (4): 11-16.

**Andrianarivo AG, Rowe JD, Barr BC, Anderson ML, Packman AE, Sverlow KW, Choromanski L, Loui C, Grace A, Conrad PA. 2000.** A polygen-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v/i.m. experimental tachyzoite challenge. Int J Parasitol 30: 985-990.

**Atkinson R, Cook R, Reddacliff L, Rothwell J, Broady K, Harper P, Ellis J. 2000.** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. Aust Vet J 78: 262-266.

**Atoccsa J, Chávez A, Casas E, Falcón N. 2005.** Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros criados al pastoreo en la provincia de Melgar, Puno. Rev Inv Vet Perú 16 (1): 71-75.

**Bae JS, Kim DY, Hwang WS, Kim JH, Lee NS, Nam HW. 2000.** Detection of IgG antibody against *Neospora caninum* in cattle in Korea. Korean J Parasitol 38 (4): 245-249.

**Baillargeon P, Fecteau G, Paré J, Lamothe P, Sauvé R. 2001.** Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. J Am Vet Med Assoc 218: 1803-1806.

**Barber JS, Holmdahl OJM, Owen MR, Guy F, Uggla A, Trees AJ. 1995.** Characterization of the first European isolate of *Neospora caninum* (Dubey, Carpenter, Speer, Topper y Uggla). Parasitology 11: 563-568.

**Barber J, Payne-Johnson C, Trees A. 1996.** Distribution of *Neospora caninum* within the central nervous system and other tissues of six dogs with clinical neosporosis. Journal of Small Animal Practice. 37: 568-574.

**Barber J, Gasser R, Ellis J, Reichel M, McMillan D, Trees A. 1997.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. J Parasitol 83: 1056-1058.

**Barling KS, Sherman M, Peterson MJ, Thompson JA, McNeill JW, Craig TM, Adams LG. 2000.** Spatial association among density of cattle, abundance of wild canids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves. J Am Vet Med Assoc 217(9): 1361-1365.

**Barr BC, Anderson ML, Dubey JP, Conrad PA. 1991a.** *Neospora*-like protozoal infections associated with bovine abortions. Vet Pathol 28: 110-116.

**Barr BC, Conrad PA, Dubey JP, Anderson ML. 1991b.** *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. J Vet Diagn Invest 3: 39-46.

**Barr B, Anderson M, Woods L, Dubey JP, Conrad P. 1992.** *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. J Vet Diagn Invest 4: 365-367.

**Barr B, Conrad P, Breitmeyer R, Sverlow K, Anderson M, Reynolds J, Chauvet A, Dubey JP, Ardans A. 1993.** Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: Four cases (1990-1992). J Am Vet Med Assoc 202: 113-117.

**Barr B, Rowe J, Sverlow K, BonDurant R, Ardans A, Oliver M, Conrad P. 1994.** Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. J Vet Diagn Invest 6: 207-215.

**Barr BC, Anderson ML, Sverlow KW, Conrad PA. 1995.** Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. Vet Rec 137: 611-613.

**Bartley PM, Kirvar E, Wright S, Swales C, Esteban-Redondo I, Buxton D, Maley SW, Schock A, Rae AG, Hamilton C, Innes EA. 2004.** Maternal and fetal immune



responses of cattle inoculated with *Neospora caninum* at mid-gestation. J Comp Pathol 130: 81-91.

**Basso W, Venturini L, Venturini M, Hill D, Kwok O, Shen S, Dubey JP. 2001a.** First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. J Parasitol 87: 612-618.

**Basso W, Venturini L, Venturini M, Moore P, Rambeau M, Unzaga J, Campero C, Bacigalupe D, Dubey JP. 2001b.** Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. J Parasitol 87: 906-907.

**Bayer. 1999.** Diseases related to protozoo and possibilities for treatment. En: Bayer workshop at the 17<sup>th</sup> Internacional Conference of the W.A.A.V.P.

**Baszler TV, Knowles DP, Dubey JP, Gay JM, Mathison BA, McElwain TF. 1996.** Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol 34: 1423-1428.

**Baszler TV, Long MT, McElwain TF, Mathison BA. 1999.** Interferon-gamma and interleukin-12 mediate protection to acute *Neospora caninum* infection in BALB/c mice. Int J Parasitol 29: 1635-1646.

**Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J. 1984.** Unidentified cyst-forming-sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z Parasitenkd 70: 271-274.

**Bjerkas I, Jenkins MC, Dubey JP. 1994.** Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. Clin Diagn Lab Immunol 1: 214-221.

**Bjorkman C, Lundén A, Holmdahl J, Barber J, Trees A, Uggla A. 1994.** *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. *Parasite Immunol* 16: 643-648.

**Bjorkman C, Johansson O, Stenlund S, Holmdahl OJM, Uggla, A. 1996.** *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 208: 1441-1444.

**Björkman C, Uggla A. 1999.** Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int J Parasitol* 29: 1497-1507.

**Björkman C, Naslund K, Stenlund S, Maley SW, Buxton D, Uggla A. 1999.** An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. *J Vet Diagn Invest* 11: 41-44.

**Björkman C, Alenius S, Emanuelsson U, Uggla A. 2000.** *Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. *Vet J* 159:201–206.

**Blumröder D. von, Schares G, Norton R, Williams DJ, Esteban-Redondo I, Wright S, Björkman C, Frössling J, Risco-Castillo V, Fernández-García A, Ortega-Mora LM, Sager H, Hemphill A, Maanen C. van, Wouda W, Conraths F.J. 2004.** Comparison and standardisation of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in bovines. *Vet Parasitol* 120: 11-22.

**Boulton JG, Gill PA, Cook RW, Fraser GC, Harper PAW, Dubey JP. 1995.** Bovine *Neospora* abortion in north-eastern New South Wales. *Aust Vet J* 72: 119-120.

**Bryan LA, Gajadhar A, Dubey JP, Haines DM. 1994.** Bovine neonatal encephalomyelitis associated with a *Neospora* sp. protozoan. *Canadian Veterinary Journal* 35: 111-113.

**Buxton D, Maley S, Thomson K, Trees AM, Innes E. 1997a.** Experimental Infection of Non-pregnant and Pregnant Sheep with *Neospora caninum*. *J Comp Path* 117: 1-16.

**Buxton D, Maley S, Pastoret P, Brochier B, Innes E. 1997b.** Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. Vet Record 141: 308-309.

**Buxton DS, Maley W, Wright S, Thomson KM, Rae AG, Innes EA. 1998.** The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. J Comp Pathol 118: 267-279.

**Buxton D, McAllister MM, Dubey JP. 2002.** The comparative pathogenesis of neosporosis. Trends Parasitol 18: 546-552.

**Cabrera M, Ortiz P, Claxton J, Williams D, Trees A. 2000.** Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en ganado vacuno en Perú. En: IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima p. 212.

**Campero CM, Moore DP, Lagomarsino H, Odeón AC, Castro M, H Visca. 2003.** Serological status and abortion rate in progeny obtained by natural service or embryo transfer from *Neospora caninum*-seropositive cows. J Vet Med Series B 50: 458-460.

**Canada N, Meireles CS, Rocha A, Sousa S, Thompson G, Dubey JP, Romand S, Thulliez P, Correia da Costa JM. 2002.** First Portuguese isolate of *Neospora caninum* from a aborted fetus from a dairy herd with endemic neosporosis. Vet Parasitol 110: 11-15.

**Canada N, Meireles CS, Mezo M, Gonzalez-Warieta M, Correia da Costa JM, Sreekumar C, Hill DE, Miska KB, Dubey JP. 2004.** *Neospora caninum* from an aborted bovine fetus in Spain. J Parasitol 90: 863-864.

**Casas G, Chávez A, Casas E, Leyva V, Alvarado A, Serrano E, Ticona D, Puray N. 2006.** Presencia de *Neospora caninum* en llamas de una empresa ganadera de la Sierra Central. Rev Inv Vet Perú 17(1): 8-13.

**Chávez A, Serrano E, Casas E, Ortega L. 2002.** *Neospora caninum* en camélidos sudamericanos peruanos. Rev Inv Vet Perú 13: 92-93.

**Chávez A, Álvarez G, Collantes E, Casas E, Rosadio R, Serrano E, Ortega L. 2004.** First report of *Neospora caninum* infection in adult alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Lama glama*). J Parasitol 90(4):864-866.

**Cheah TS, Mattsson JG, Zaini M, Sani RA, Jakubek EB, Uggla A, Chandrawathani P. 2004.** Isolation of *Neospora caninum* from a calf in Malaysia. Vet Parasitol 126: 263-269.

**Cheadle MA, Jennifer MS, Blagburn BL. 1999.** Seroprevalences of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in nondomestic felids from southern Africa. J Zoo Wild Med 30: 248-251.

**Cho JH, Chung WS, Song KJ, Na BK, Kang SW, Song ChY, Kim TS. 2005.** Protective efficacy of vaccination with *Neospora caninum* multiple recombinant antigens against experimental *Neospora caninum* infection. Korean J Parasitol 43(1): 19-25

**Cole RA, Lindsay DS, Dubey JP, Toivio-Kinnucan MA, Blagburn BL. 1994.** Characterization of a murine monoclonal antibody generated against *Neospora caninum* by western blot analysis and immunoelectron microscopy. Am J Vet Res 55: 1717-1722.

**Conrad PA, Barr BC, Sverlow KW, Anderson M, Daft B, Kinde H, Dubey JP, Munson L, Ardans A. 1993.** In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. From aborted bovine fetuses. Parasitol 106: 239-249.

**Corbellini LG, Driemeier D, Cruz CFE, Gondim LFP, Wald V. 2002.** Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. Vet Parasitol 103: 195-202.

**Cornejo N, Chávez A, Casas E, Arana C. 2004.** Seroprevalencia de *N. caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del valle del Mantaro. Rev Inv Vet Perú 15(1): 70-75.

**Çoskun SZ, Aydyn L, Bauer C. 2000.** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in domestic dogs in Turkey. Vet Rec 146: 649-649.

**Costa KS, Santos SL, Uzeda RS, Pinheiro AM, Almeida MAO, Araujo FR, McAllister MM, Gondim LFP. 2008.** Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol 38: 157-159.

**Cox BT, Reichel MP, Griffiths LM. 1998.** Serology of a *Neospora* abortion outbreak on a dairy farm in New Zealand: a case study. N Z Vet J 46: 28-31.

**Cringoli G, Rinaldi E, Capuano F, Baldi L, Veneziano V, Capelli G. 2002.** Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. Vet Parasitol 106: 307-313.

**Cuddon P, Lin DS, Bowman DD, Lindsay DS, Miller TK, Duncan ID, deLahunta A, Cummings J, Suter M, Cooper B, King JM, Dubey JP. 1992.** *Neospora caninum* infection in English springer spaniel littermates: Diagnostic evaluation and organism isolation. J Vet Intern Med 6: 325-332.

**Daft B, Barr B, Collins N, Sverlow K. 1996.** *Neospora* encephalomyelitis and polyraiculoneuritis in an aged mare with Cushing's disease. Equine Vet J 28: 240-243.

**Dannatt L, Guy F, Trees AJ. 1995.** Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. Vet Rec 137: 566-567.

**Damriyasa IM, Bauer C, Edelhofer R, Failing K, Lind P, Petersen E, Schares G, Tenter AM, Volmer R, Zahner H. 2004.** Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. Vet Parasitol 126: 271-286.

**Davison HC, Guy F, Trees AJ, Ryce C, Ellis JT, Otter A, Jeffrey M, Simpson VR, Holt JJ. 1999a.** In vitro isolation of *Neospora caninum* from a stillborn calf in the UK. Res Vet Science 67: 103-105.

**Davison HC, Otter A, Trees AJ. 1999b.** Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infection in dairy cattle. Int J Parasitol 29: 1683-1689.

**Davison HC, Otter A, Trees AJ. 1999c.** Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. Int J Parasitol 29: 1189-1194.

**Davison HC, Guy CS, McGarry JW, Guy F, Williams DJL, Kelly DF, Trees AJ. 2001.** Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. Res Vet Sci 70: 163-168.

**Del Campo J, Chávez A, Delgado A, Falcón N, Ornelas Á, Casas E, Serrano E. 2003.** Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros del Valle de Lima. Rev Inv Vet Perú14: 145-149

**De Marez T, Liddell S, Dubey JP, Jenkins MC, Gasbarre L. 1999.** Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. Int J Parasitol 29: 1647-1657.

**De Meerschman F, Spevbroeck N, Berkvens D, Rettignera C, Focant C, Leclipteux T, Cassart D, Losson B. 2002.** Fetal infection with *Neospora caninum* in dairy and beef cattle in Belgium. Theriogenology 58(5): 933-945.

**Dijkstra T, Barkema HW, Hesselink JW, Wouda W. 2002.** Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. Vet Parasitol 105: 89-98.

**Dijkstra Th, Barkema HW, Eysker M, Beiboer ML, Wouda W. 2003.** Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies. *Vet Parasitol* 110: 161-169

**Dubey JP, Carpenter J, Speer C, Topper M, Uggla A. 1988a.** Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 192: 1269-85.

**Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ. 1988b.** Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am Vet Med Assoc* 193: 1259-1263.

**Dubey JP, Leathers CW, Lindsay DS. 1989.** *Neospora caninum*-like protozoon associated with fatal myelitis in newborn calves. *J Parasitol* 75: 146-148.

**Dubey JP, Lindsay DS. 1990.** *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J Vet Diagn Invest* 2: 230-233.

**Dubey JP, Porterfield M. 1990.** *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. *J Parasitol* 76: 732-734.

**Dubey JP, Hartley WJ, Lindsay DS, Topper MJ. 1990a.** Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *J Parasitol* 76: 127-130.

**Dubey JP, Hartley WJ, Lindsay DS. 1990b.** Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. *J Am Vet Med Ass* 197: 1043-1044.

**Dubey JP, Acland HM, Hamir AN. 1992a.** *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. *J Parasitol* 78: 532-534.

**Dubey JP, Lindsay DS, Anderson ML, Davis SW, Shen SK. 1992b.** Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J Am Vet Med Assoc* 201: 709-713.

**Dubey JP, de Lahunta A. 1993.** Neosporosis associated congenital limb deformities in a calf. *Appl Parasitol* 34: 229-233.

**Dubey JP, Lindsay DS. 1996.** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 67: 1-59.

**Dubey JP, Morales JA, Villalobos P, Lindsay DS, Blagburn BL, Topper MJ. 1996.** Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J Am Vet Med Assoc.* 208: 263-265.

**Dubey JP, Jenkins MC, Adams DS, McAllister MM, Anderson-Sprecher R, Baszler TV, Kwok OCH, Lally NC, Bjorkman C, Uggla A. 1997.** Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays. *J Parasitol* 83: 1063-1069.

**Dubey JP. 1999a.** Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J Am Vet Med Assoc* 214: 116-1163.

**Dubey JP. 1999b.** Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol* 84: 349-367.

**Dubey JP, Hollis K, Romand S, Thulliez P, Kwok OCH, Hungerford L, Anchor C, Etter D. 1999.** High prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Int J Parasitol* 29: 1709-1711.

**Dubey JP, Bjerkas I, Bjorkman C, Blagburn BL, Bowman DD, Buxton D, Ellis JT, Gottstein B, Hemphill A, Hill DE, Howe DK, Jenkins MC, Kobayashi Y, Koudela B, Marsh AE, Mattsson JG, McAllister MM, Modrý D, Omata Y, Sibley LD, Speer CA, Trees AJ, Uggla A, Upton SJ, Williams DJL, Lindsay DS. 2002.** Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol* 32: 929-946.



**Dubey JP. 2003.** Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J Parasitol 41(1): 1-16.

**Dubey JP, Zamke R, Thomas NJ, Wong SK, Van Bonn W, Briggs M, Davis JW, Ewing R, Mense M, Kwok OCH, Romand S, Thulliez P. 2003.** *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. Vet Parasitol 116: 275-296.

**Dubey JP, Sreekumar C, Knickman E, Miska KB, Vianna MCB, Kwok OCH, Hill DE, Jenkins MC, Lindsay DS, Greene CE. 2004.** Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. Int J Parasitol 34: 1157-1167.

**Dubey JP, Schares G. 2006.** Diagnosis of bovine neosporosis. Vet Parasitol 140(1-2): 1-34.

**Dubey JP, Buxton D, Wouda W. 2006.** Pathogenesis of bovine neosporosis. J Comp Pathol 134: 267-289.

**Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. 2007.** Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clin Microbiol Rev 20(2): 323-367.

**Dyer RM, Jenkins MC, Kwok OCH, Douglas LW, Dubey JP. 2000.** Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. Vet Parasitol 90:171-181.

**Entrican G. 2002.** Immune regulation during pregnancy and host<sup>^</sup>pathogen interactions in infectious abortion. J Comp Pathol 126: 79-94.

**Eperon S, Brönnimann K, Hemphill A, Gottstein B. 1999.** Susceptibility of B-cell deficient C57BL/6 ( $\mu$ MT) mice to *Neospora caninum* infection. Parasite Immunol 21: 225-236.

**Escurra JC. 2003.** Seroprevalencia de Neosporosis bovina, diagnosticada mediante Inmunofluorescencia indirecta, en un predio de la Campiña de Baños del Inca, provincia de Cajamarca, en el año 2001. Tesis de Médico Veterinario. Cajamarca: Facultad de Ciencias Veterinarias, Univ. Nac. Cajamarca. 57 p.

**Ferre I, Aduriz G, del Pozo I, Regidor-Cerrillo J, Atxaerandio R, Collantes-Fernández E, Hurtado A, Ugarte-Garagalza C, Ortega-Mora LM. 2005.** Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. Theriogenology 63: 1504-1518.

**Ferroglio E, Rossi L. 2001.** Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in wild ruminants from the Italian Alps. Vet Rec 148: 754-755.

**Ferroglio E, Bassano B, Trisciuglio A, Rossi L. 2001.** Antibodies to *Neospora caninum* in the Alpin ibex from the Italian Alps. Z Jagdwiss 47: 226-228.

**Ferroglio E, Trisciuglio A. 2003.** Antibodies to *Neospora caninum* in European brown hare (*Lepus europaeus*). Vet Parasitol 115: 75-78.

**Ferroglio E, Wambwa ME, Castiello M, Trisciuglio A, Prouteau A, Pradera E, Ndungu S, De Meneghi D. 2003.** Antibodies to *Neospora caninum* in wild animals from Kenya, East Africa. Vet Parasitol 118: 43-49.

**Figliuolo LP, Kasai N, Ragozo AM, de Paula VS, Dias RA, Souza SL, Gennari SM. 2004.** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from Sao Paulo State. Brazil Vet Parasitol 123: 161-166.

**Fioretti DP, Rosignoli L, Ricci G, Moretti A, Pasquali P, Polidori GA. 2000.** *Neospora caninum* infection in a clinically healthy calf: parasitological study and serological follow-up. J Vet Med 47: 47-53.

**French NP, Clancy D, Davison HC, Trees AJ. 1999.** Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. Int J Parasitol 29: 1691-1704.

**Gennari SM, Yai LEO, D'Auria SNR, Cardoso SMS, Kwok OCH, Jenkins MC, Dubey JP. 2002.** Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of Sao Paulo, Brazil. Vet Parasitol 106: 177-179.

**Gondim LFP, Pinheiro AM, Santos POM, Jesus EEV, Ribeiro MB, Fernández HS, Almeida MAO, Freire SM, Meyer R, McAllister MM. 2001.** Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog and production of encysted bradyzoites in gerbils. Vet Parasitol 101: 1-7.

**Gondim LFP, Gao L, McAllister MM. 2002.** Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. J Parasitol 88: 1159-1163.

**Gondim LFP, Mc Allister M, Pitt W, Zemlicka D. 2004a.** Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol 34: 159-161.

**Gondim LFP, Mc Allister M, Mateus-Pinilla NE, Pitt WC, Mech LD, Nelson ME. 2004b.** Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. J Parasitol 90(6): 1361-1365.

**Gondim LFP. 2006.** *Neospora caninum* in wildlife. Trends Parasitol 22(6): 247-252.

**Gonzales L, Buxton D, Atxaerandio R, Aduriz G, Maley S, Marco JC, Cuervo LA. 1999.** Bovine abortion associated with *Neospora caninum* in northern Spain. Vet Rec 144: 145-150.

**Gottstein B, Eperon S, Dai W, Cannas A, Hemphill A, Greif G. 2001.** Efficacy of toltrazuril and ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice. Parasitol Res 87: 43-48.

**Gottstein B, Razmi GR, Ammann P, Sager H, Muller N. 2005.** Toltrazuril treatment to control diaplacental *Neospora caninum* transmission in experimentally infected pregnant mice. *Parasitol* 130: 41-48.

**Graham DA, Calvert V, Whyte M, Marks J. 1999.** Absence of serological evidence for human *Neospora caninum* infection. *Vet Rec* 144: 672-673.

**Hall CA, Reichel MP, Ellis JT. 2005.** *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Vet Parasitol* 128: 231-241.

**Häsler B, Stärk K, Sager H, Gottstein B, Reist M. 2006.** Simulating the impact of four control strategies on the population dynamics of *Neospora caninum* infection in Swiss dairy cattle. *Prev Vet Med* 77: 254-283.

**Hässig M, Gottstein B. 2002.** Epidemiological investigations of abortions due to *Neospora caninum* on Swiss dairy farms. *Vet Rec* 150: 538-542.

**Hässig M, Sager H, Reitt K, Ziegler D, Strabel D, Gottstein B. 2003.** *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. *Vet Parasitol* 117: 213-220.

**Hay WH, Shell LG, Lindsay DS, Dubey JP. 1990.** Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 197: 87-89.

**Helmick B, Otter A, McGarry J, Buxton D. 2002.** Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. *Res Vet Sci* 73: 187.

**Hemphill A, Gottstein B. 2000.** A European perspective on *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 30: 877-924.

**Hemphill A, Gottstein B. 2006.** *Neospora caninum* and neosporosis – recent achievements in host and parasite cell biology and treatment. *Acta Parasitol* 51(1): 15-25.

**Hernández J, Risco C, Donovan A. 2001.** Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. J Am Vet Med Assoc 219: 632-635.

**Heuer C, Nicholson C, Muñoz Bielsa J, Weston J. 2004.** Efficacy of a vaccine against *Neospora caninum* related abortions. En: Proceeding of the World Buiatrcis Congress, Quebec. Julio 11-16.

**Hilali M, Romand S, Thulliez P, Kwok O, Dubey JP. 1998.** Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from camels from Egypt. Vet Parasitol 75: 269-271.

**Hobson JC, Duffield TF, Kelton D, Lissemore K, Hietala SK, Leslie KE, McEwen B, Cramer G, Peregrine AS. 2002.** *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle. J Am Vet Med Assoc 221: 1160-1164.

**Horna S, Chávez A, Casas E, Serrano E. 2003.** Seroprevalencia de *Neospora caninum* en caninos en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. Rev Inv Vet Perú 14: 150-154.

**Huang CC, Yang CH, Watanabe Y, Liao YK, Ooi HK. 2004.** Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). Vet Res 35: 283-290.

**Huong L, Ljungström B, Ugglä A, Björkman C. 1998.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. Vet Parasitol 75: 53-57.

**Innes EA, Buxton D, Eperon S, Gottstein B. 2000.** Immunology of *Neospora caninum* infection in cattle and mice. Int J Parasitol 30: 896-900.

**Innes EA, Lunden A, Esteban I, Marks J, Maley S, Wright S, Rae A, Harkins D, Vermeulen A, McKendrick IJ, Buxton D. 2001a.** A previous infection with

*Toxoplasma gondii* does not protect against a challenge with *Neospora caninum* in pregnant sheep. Parasite Immunol 23(3): 121-132.

**Innes EA, Wright SE, Maley S, Rae A, Schock A, Kirvar E, Bartley P, Hamilton C, Carey IM, Buxton D. 2001b.** Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. Int J Parasitol 31: 1523-1534.

**Innes EA, Andrianarivo AG, Björkman C, Williams DJL, Conrad PA. 2002.** Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. Trends Parasitol 18: 497-504.

**Innes EA, Wright S, Bartley P, Maley S, Macaldowie C, Esteban-Redondo I, Buxton D. 2005.** The host parasite relationship in bovine neosporosis. Vet Immunol Immunopathol 108: 29-36.

**Jensen AM, Björkman C, Kjeldsen AM, Wedderkopp A, Willadsen C, Uggla A, Lind P. 1999.** Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. Prev Vet Med 40:151-163.

**Jolley WR, McAllister MM, McGuire AM, Wills RA. 1999.** Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. Vet Parasitol 82: 251-257.

**Kaspar LH, Khan IA. 1998.** Antigen-specific CD8<sup>+</sup> T-cells protect against lethal toxoplasmosis in mice infected with *Neospora caninum*. Infect Immun 66: 1554-1560.

**Keefe G, VanLeeuwen J. 2000.** *Neospora caninum* in maritime Canada: historic prevalence and influence on milk production. En: Proceedings of the 52<sup>nd</sup> Annual Convention of the Canadian Veterinary Medical Ass.

**Khan I, Schwartzman J, Fonseka S, Kasper L. 1997.** *Neospora caninum*: Role for immune cytokines in host immunity. Exp Parasitol 85: 24-34.

**Kim JH, Sohn HJ, Hwang WS, Hwang EK, Jean YH, Yamane I, Kim DY. 2000.** In Vitro isolation and characterization of bovine *Neospora caninum* in Korea. Vet Parasitol 90: 147-154.

**Kobayashi Y, Yamada M, Omata Y, Koyama T, Saito A, Matsuda T, Okuyama K, Fujimoto S, Furuoka H, Matsui T. 2001.** Naturally-Occurring *Neospora caninum* Infection in an Adult Sheep and Her Twin Fetuses. J Parasitol 87: 434-436.

**Koyama T, Kobayashi Y, Omata Y, Yamada M, Fukuoka H, Maeda R, Matsui T, Saito A, Mikami T. 2001.** Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. J Parasitol 87: 1486-1488.

**Kritzner S, Sager H, Blum J, Krebber R, Greig G, Gottstein B. 2002.** An explorative study to assess the efficacy of Toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *N. caninum*. Ann Clin Microbiol Antimicrob 1 (1): 4.

**Kyaw T, Suwimonteerabutr J, Virakul P, Lohachit C, Kalpravidh W. 2005.** Seronegative conversion in four *Neospora caninum*-infected cows, with a low rate of transplacental transmission. Vet Parasitol 131: 145-150.

**Larson RL, Hardin DK, Pierce VL. 2004.** Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum*-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. J Am Vet Med Assoc 224: 1597-1604.

**Liao M, Zhang S, Xuan X, Zhang G, Huang X, Igarashi I, Fujisaki K. 2005.** Development of Rapid Immunochromatographic Test with Recombinant NcSAG1 for Detection of Antibodies to *Neospora caninum* in Cattle. Clin Diagn Lab Immunol 12(7): 885-887.

**Linares LJ. 2002.** Evidencia serológica de transmisión neonatal de *Neospora caninum* en ganado vacuno lechero en Cajamarca. Tesis de Médico Veterinario. Cajamarca: Facultad de Ciencias Veterinarias, Univ. Nac. Cajamarca. 102 p.

**Lindsay D, Dubey J. 1989.** Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. Am J Vet Res 50: 1981-1983.

**Lindsay D, Speer C, Toivio-Kinnucan M, Dubey J, Blagburn B. 1993.** Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. Am J Vet Res 54:103-106.

**Lindsay D, Rippey N, Cole R, Parsons L, Dubey J, Tidwell R, Blagburn B. 1994.** Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. Am J Vet Res 55:976-981.

**Lindsay DS, Rippey NS, Powe TA, Sartin EA, Dubey JP, Blagburn BL. 1995.** Abortions, fetal death, and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachyzoites of *Neospora caninum*. Am J Vet Res 56: 1176-1180.

**Lindsay DS, Kelly JE, McKown R, Stein FJ, Herman J, Dubey JP, Blagburn BL. 1996a.** Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. J Parasitol 82: 657-659.

**Lindsay D, Upton S, Dubey J. 1999a.** A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. Int J Parasitol 29: 1521-1523.

**Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. 1999b.** Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. Vet Parasitol 82: 327-333.

**Lindsay DS, Dubey JP, McAllister MM. 1999c.** *Neospora caninum* and potential for parasite transmission. Compendium 21: 317-321.

**Lindsay DS, Weston JL, Little SE. 2001.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) from South Carolina. Vet Parasitol 97: 159-164.



**López-Gatius F, Pabón M, Almería S. 2004.** *Neospora caninum* infection does not affect early pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology* 62: 606-613.

**Lozada E. 2004.** Determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la Sierra Centro norte del Ecuador, por prueba inmunoenzimática. Tesis de Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ecuador: Univ. Central del Ecuador. 83 p.

**Macaldowie C, Maley SW, Wright S, Bartley P, Esteban-Redondo I, Buxton D, Innes E. 2004.** Placental pathology associated with fetal death in cattle inoculated with *Neospora caninum* by two different routes in early pregnancy. *J Comp Pathol* 131: 142-156.

**Magnino S, Vigo PG, Fabbi M, Colombo M, Bandi C, Genchi C. 1999.** Isolation of a bovine *Neospora* from a newborn calf in Italy. *Vet Record* 144: 456.

**Magnino S, Vigo PG, Bandi C, Bazzocchi C, Fabbi M, Genchi C. 2000.** Small-subunit rDNA sequencing of the Italian bovine *Neospora caninum* isolate (NC-PV1 strain). *Parasitology* 42: 191-192.

**Maley SW, Buxton D, Rae AG, Wright SE, Schock A, Bartley PM, Esteban-Redondo I, Swales C, Hamilton CM, Sales J, Innes EA. 2003.** The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: inoculation at mid-gestation. *J Comp Pathol* 129: 186-195.

**Marks J, Lunden A, Harkins D, Innes E. 1998.** Identification of *Neospora* antigens recognized by CD4<sup>+</sup> Tcells and immune sera from experimentally infected cattle. *Parasite Immunology*. 20: 303-309.

**Marsh A, Barr B, Madigan J, Lakritz J, Nordhausen R, Conrad P. 1996.** Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. *J Am Vet Med Assoc* 209: 1907-1916.

**Marsh AE, Barr BC, Packman AE, Conrad PA. 1998.** Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). J Parasitol 84: 983-991.

**McAllister MM, McGuire AM, Jolley WR, Lindsay DS, Trees AJ, Stobart RH. 1996.** Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. Vet Parasitol 33: 647-655.

**McAllister M, Dubey JP, Lindsay D, Jolley W, Wills R, McGuire A. 1998.** Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol 28: 1473-1478.

**McAllister MM, Bjorkman C, Anderson-Sprecher R, Rogers DG. 2000.** Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. J Am Vet Med Assoc 217: 881-887.

**McGuire A, McAllister M, Wills R, Tranas J. 1999.** Experimental inoculation of domestic pigeons (*Columbia livia*) and zebra finches (*Poephila guttata*) with *Neospora caninum* tachyzoites. Int J Parasitol 29: 1525-1529.

**McNamee PT, Trees AJ, Guy F, Moffett D, Kilpatrick D. 1996.** Diagnosis and prevalence of neosporosis in cattle in Northern Ireland. Vet Rec 138: 419-420.

**Miller CMD, Quinn HE, Windsor PA, Ellis JT. 2002.** Characterization of the first Australian isolate of *Neospora caninum* from cattle. Aust Vet J 80: 620-625.

**Mineo T, Silva D, Costa G, vonAncken A, Kasper L, Souza M, Cabral D, Costa A, Mineo J. 2001.** Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. Vet Parasitol 98: 239-245.

**MINAG. 2006.** Ministerio de Agricultura [Internet], [03 de junio del 2008]. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe/pecuaria/situacion-de-las-actividades-de-crianza-y-produccion.html>

**Moen AR, Wouda W, Mul MF, Graat EA, van Werven T. 1998.** Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology* 49(7): 1301-1309.

**Moore DP. 2005.** Neosporosis in South America. *Vet Parasitol* 127: 87-97.

**Moore DP, Odeón AC, Campero CM. 2001.** Neosporosis bovina: una actualización. *Vet Arg* 180(13): 752-775.

**Moore D, Campero C, Odeon A, Posso M, Cano D, Leunda M, Basso W, Venturini M, Spath E. 2002.** Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet Parasitol* 107: 303-316.

**Moore DP, Odeón AC, Venturini MC, Campero CM. 2005.** Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Rev Argent Microbiol* 37(4): 217-228.

**Moore DP, Regidor-Cerillo J, Morell E, Poso MA, Cano DB, Leunda MR, Linschinky, Odeón AC, Odrinozola E, Ortega-Mora LM, Campero CM. 2008.** The role of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spontaneous bovine abortion in Argentina. *Vet Parasitol* 156: 163-167.

**Morales E, Trigo FJ, Ibarra F, Puente E, Santacruz M. 2001.** Neosporosis in Mexican dairy herds: lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. *J Comp Pathol* 125: 58-63.

**Moré G, Pardini L, Basso W, Marín R, Bacigalupe D, Auad G, Venturini L, Venturini MC. 2008.** Seroprevalence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* sp. in llamas (*Lama glama*) from Jujuy, Argentina. *Vet Parasitol* 155: 158-160.

**Moskwa B, Cabaj W, Pastusiak K, Bien J. 2003.** The suitability of milk in detection of *Neospora caninum* infection in cows. *Acta Parasitol* 48: 138-141.

**Moskwa B, Pastusiak K, Bien J, Cabaj W. 2007.** The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. *Parasitol Res* 100(3): 633-636.

**Mosmann TR, Cofman RL. 1989.** Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 7: 145-173.

**Moya J, Chávez A, Casas E, Serrano E, Falcón N, Pezo D. 2003.** Seroprevalencia de *Neospora caninum* en llamas hembras de la provincia de Melgar, Puno. *Rev Inv Vet Perú* 14:155-160.

**Nam HW, Kang SW, Choi WY. 1998.** Antibody reaction of human anti-*Toxoplasma gondii* positive and negative sera with *Neospora caninum* antigens. *Korean J Parasitol* 36 (4): 269-275.

**Nishikawa Y, Mikami T, Nagasawa H. 2002.** Vaccine development against *Neospora caninum* infection. *J Vet Med Sci* 64: 1-5.

**Nishikawa Y, Inoue N, Makala L, Nagasawa H. 2003.** A role for balance of interferon-gamma and interleukin-4 production in protective immunity against *Neospora caninum* infection. *Vet Parasitol* 116: 175-184.

**Ogino H, Watanabe E, Watanabe S, Agawa H, Narita M, Haritani M, Kawashima K. 1992.** Neosporosis in the aborted foetus and newborn calf. *J Comp Pathol* 107: 231-237.

**O'Handley R, Liddell S, Parker C, Jenkins M, Dubey JP. 2002.** Experimental infection of sheep with *Neospora caninum* oocysts. *J Parasitol* 88: 1120-1123.

**Okeoma CM, Williamson NB, Pomroy WE, Stowell KM, Gillespie L. 2004a.** Isolation and molecular characterization of *Neospora caninum* in cattle in New Zealand. *N Z Vet J* 52: 364-370.

**Okeoma CM, Williamson NB, Pomroy WE, Stowell KM, Gillespie L. 2004b.** The use of polymerase chain reaction to detect *Neospora caninum* deoxyribonucleic acid in the blood of naturally infected cows. *Vet Parasitol* 122: 307-315.

**Okeoma CM, Stowell KM, Williamson NB, Pomroy WE. 2005.** *Neospora caninum*: Quantification of DNA in the blood of naturally infected aborted and pregnant cows using real-time PCR. *Exp Parasitol* 110: 48-55.

**Ortega L, Quintanilla A, Pereira J. 1997.** Neosporosis ovina y caprina: conocimientos actuales. En: *Tratado de Patología y Producción Ovina*. Ortega L, ed. Madrid: Luzan. Cap 5.

**Ortega LM, Collantes E, Álvarez G. 2001.** La neosporosis del ganado bovino: una enfermedad emergente. *Rev Cien Vet Lima* 17: 7-14.

**Ortega-Mora LM, Ferre I, del-Pozo I, Caetano-da-Silva A, Collantes-Fernández E, Regidor-Cerrillo J, Ugarte-Garagalza C, Aduriz G. 2003.** Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. *Vet Parasitol* 28: 301-308.

**Ortega-Mora LM, Fernández-García A, Gómez-Bautista M. 2006.** Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. *Acta Parasitol* 51(1): 1-14.

**Osawa T, Wastling J, Maley S, Buxton D, Innes EA. 1998.** A multiple antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera, ovine and caprine sera. *Vet Parasitol* 79: 19-34.

**O'Toole D, Jeffrey M. 1987.** Congenital sporozoan encephalomyelitis in a calf. *Veterinary Record* 121: 563-566.

**Otter A, Jeffrey M, Griffiths I, Dubey J. 1995.** A survey of the incidence of *Neospora caninum* infection in aborted and stillborn bovine fetuses in England and Wales. *Vet Rec* 136: 602-606.

**Otter A, Jeffrey M, Scholes SFE, Helmick B, Wilesmith JW, Trees AJ. 1997.** Comparison of histology with maternal and fetal serology for the diagnosis of abortion due to bovine neosporosis. *Vet Rec* 141: 487-489.

**Packham AE, Sverlow KW, Conrad PA, Loomis EF, Rowe JD, Anderson ML, Marsh AE, Cray C, Barr BC. 1998.** A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 5: 467-473.

**Paré J, Hietala S, Thurmond M. 1995.** Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J Vet Diagn Invest* 7: 273-275.

**Paré J, Thurmond MC, Hietala SK. 1996.** Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhoo mortality. *Can J Vet Res* 60: 133-139.

**Paré J, Thurmond MC, Hietala SK. 1997.** *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J Parasitol* 83: 82-87.

**Parish SM, Maag-Miller L, Besser TE, Weidner JP, McElwain T, Knowles DP, Leathers CW. 1987.** Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. *J Am Vet Med Assoc* 191: 1599-1600.

**Patitucci AN, Phil M, Pérez MJ, Rozas MA, Israel KF. 2001.** *Neosporosis canina*: presencia de anticuerpos séricos en poblaciones caninas rurales y urbanas de Chile. *Arch Med Vet* 33: 227-232.

**Pereira-Bueno J, Quintanilla-Gozaolo A, Del Río-González L, Ortega-Mora LM. 1999.** Epidemiología (II): Transmisión y factores de riesgo. En: Patología de la reproducción de etiología parasitaria (II): Neosporosis. *Rev Aula Veterinaria Bovis* 88: 35-42.

**Peters M, Wagner F, Schares G. 2000.** Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. Parasitol Res 86: 1-7.

**Peters M, Wohlsein P, Knieriem A, Schares G. 2001a.** *Neospora caninum* infection associated with stillbirths in captive antelopes (*Tragelaphus imberbis*). Vet Parasitol 97: 153-157.

**Peters M, Lütkefels E, Heckerroth AR, Schares G. 2001b.** Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. Int J Parasitol 31: 1144-1148.

**Petersen E, Lebech M, Jensen L, Lind P, Rask M, Bagger P, Bjorkman C, Uggla A. 1999.** *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans. Emerg Infect Dis 5: 278-280.

**Pfeiffer DU, Williamson NB, Reichel MP, Wichtel JJ, Teague WR. 2002.** A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on a dairy farm in New Zealand. Prevent. Vet Med 54: 11-24.

**Puray N, Chávez A, Casas E, Falcón N, Casas G. 2006.** Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de una empresa ganadera de la Sierra Central del Perú. Rev Inv Vet Perú 17(2): 189-194.

**Quevedo J, Chávez A, Rivera H, Casas E, Serrano E. 2003.** Neosporosis en bovinos lecheros en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. Rev Inv Vet Perú 14: 33-37.

**Quinn HE, Ellis JT, Smith NC. 2002.** *Neospora caninum*: a cause of immune mediated failure of pregnancy. Trends Parasitol 18: 391-394.

**Reichel MP, Thorton RN, Morgan PL, Mills RJM, Schares G. 1998.** Neosporosis in a pup. N Z Vet J 46: 106-110.

**Reichel MP, Ross GP, McAllister MM. 2008.** Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of *Neospora caninum* infection in sheep and determination of the apparent prevalence of infection in New Zealand. *Vet Parasitol* 151: 323-326.

**Rinaldi L, Pacelli F, Iovane G, Pagnini U, Veneziano V, Fusco G, Cingoli G. 2007.** Survey of *Neospora caninum* and bovine herpes virus 1 coinfection in cattle. *Parasitol Res* 100:359-364.

**Rivera H, Nelson D, Tabacchi L. 2000.** *Neospora caninum* y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. *Rev Inv Vet Perú* 11: 1-7.

**Romand S, Thulliez P, Dubey J. 1998.** Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol Res* 84: 50-53.

**Romanelli PR, Freire RL, Vidotto O, Marana ER, Ogawa L, de Paula VS, Garcia JL, Navarro IT. 2007.** Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Parana State, Brazil. *Res Vet Sci* 82: 202-207.

**Romero JJ, Perez E, Frankena K. 2004.** Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rica dairy cows under field conditions. *Vet Parasitol* 123: 149-159.

**Rosadio R, Rivera H, Chávez A, Serrano E, Quispe R, Rodríguez J, Yaya C. 2003.** Seroprevalencia de agentes abortigénicos en alpacas de Canchis-Cusco. En: III Congreso mundial de camélidos sudamericanos. Cusco: Perú. 11: 863-868.

**Rivera H, Benito A, Ramos O, Manchego A. 2004.** Prevalencia de enfermedades de impacto reproductivo em bovinos de la estación experimental de trópico del centro de investigaciones IVITA. *Rev Inv Vet Perú* 15(2): 120-126.



**Sager H, Fischer I, Furrer K, Strasser M, Waldvogel A, Boerlin P, Audige L, Gottstein B. 2001.** A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Vet Parasitol* 102: 1-15.

**Sager H, Gloor M, Bjorkman C, Kritzner S, Gottstein B. 2003.** Assessment of antibody avidity in aborting cattle by a somatic *Neospora caninum* tachyzoite antigen IgG avidity ELISA. *Vet Parasitol* 112: 1-10.

**Sanderson MW, Gay JM, Baszler TV. 2000.** *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Vet Parasitol* 90:15-24.

**SAU-SENASA.** Sistema de Atención al Usuario [Internet], [15 de diciembre del 2008]. Disponible en: [http://www.senasa.gob.pe/servicios/servicios\\_en\\_linea/sigsa\\_web/default.asp](http://www.senasa.gob.pe/servicios/servicios_en_linea/sigsa_web/default.asp)

**Sawada M, Kondo H, Tomioka Y, Park CH, Morita T, Shimada A, Umemura T. 2000.** Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. *Vet Parasitol* 90: 247-252.

**Schares G, Peters M, Wurm R, Bärwald A, Conraths F. 1998.** The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet Parasitol* 80: 87-98.

**Schares G, Conraths F, Reichel M. 1999.** Bovine neosporosis: comparison of serological methods using outbreak sera from a dairy herd in New Zealand. *Int J Parasitol* 29: 1659-1667.

**Schares G, Conraths FJ. 2001.** Placentophagia - an alternative way for horizontal transmission of *Neospora caninum* in cattle?. *Trends Parasitol* 17: 574.

**Schares G, Heydorn AO, Cuppers A, Conraths FJ, Mehlhorn H. 2001.** Hammondia heydorni-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. Parasitol Res 87(10): 808-816.

**Schock A, Buxton D, Spence JA, Low JC, Baird A. 2000.** Histopathological survey of aborted bovine fetuses in Scotland with special reference to *Neospora caninum*. Vet Rec 147: 687-688.

**Serrano-Martínez E, Collantes-Fernández E, Rodríguez-Bertos A, Casas-Astos E, Alvarez-García G, Chávez-Velásquez A, Ortega-Mora LM. 2004.** *Neospora* species-associated abortion in alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Lama glama*). Vet Rec 155: 748-749.

**Serrano E. 2005.** Identificación de *Neospora caninum* en abortos de camélidos sudamericanos domésticos del Perú. Tesis de Magíster. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 104 p.

**Serrano-Martínez E, Collantes-Fernández E, Chávez-Velásquez A, Rodríguez-Bertos A, Casas-Astos E, Risco-Castillo V, Rosadio-Alcántara R, Ortega-Mora LM. 2007.** Evaluation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in alpaca (*Vicugna pacos*) and llama (*Lama glama*) aborted foetuses from Peru. Vet Parasitol 150(1-2): 39-45.

**Silva P, Chávez A, Rivera H, Casas E. 2002.** Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del Valle de Lima. Rev Inv Vet Perú 13:51-55.

**Slotved HC, Jensen L, Lind P. 1999.** Comparison of the IFAT and Iscom-ELISA response in bovine foetuses with *Neospora caninum* infection. Int J Parasitol 29: 1165-1174.

**Speer C, Dubey JP. 1989.** Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum*. J Protozool 36: 458-63.

**Ståhl K. 2006.** Bovine Viral Diarrhoea Virus and Other Reproductive Pathogens. Epidemiological Studies in Peruvian Cattle. Tesis doctoral. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences. p 44.

**Staska LM, McGuire TC, Davies CJ, Lewin HA, Bazler TV. 2003.** *Neospora caninum*-infected cattle develop parasite-specific CD4+ cytotoxic T lymphocytes. Infect Immun 71: 3272-3279.

**Stenlund S, Bjorkman C, Holmdahl OJM, Kindahl H, Uggla A. 1997.** Characterization of a Swedish bovine isolate of *Neospora caninum*. Parasitol Res 83: 214-219.

**Tarantino C, Rossi G, Kramer L, Perrucci S, Cringoli G, Macchioni G. 2001.** *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* simultaneous skin infection in a young dog in Italy. Vet Parasitol 102: 77-83.

**Thilsted J, Dubey J. 1989.** Neosporosis-like abortions in herd of dairy cattle. J Vet Diagn Invest 1: 205-209.

**Thornton RN, Thompson EJ, Dubey JP. 1991.** *Neospora* abortion in New Zealand cattle. N Z Vet J 39: 129-133.

**Thurmond MC, Hietala S. 1995.** Strategies to control *Neospora* infection in cattle. The Bovine Practitioner 29: 60-63.

**Thurmond MC, Hietala SK. 1996.** Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. Am J Vet Res 57: 1559-1562.

**Thurmond MC, Hietala SK, Blanchard PC. 1997.** Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. J Vet Diagn Invest 9: 44-49.

**Thurmond MC, Hietala SK. 1997.** Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. J Am Vet Med Assoc 210: 672.

**Torres L. 2006.** Seroprevalencia de *Neospora caninum* en ganado vacuno lechero de Chota. Tesis de Médico Veterinario. Cajamarca: Facultad de Ciencias Veterinarias, Univ. Nac. Cajamarca. 81 p.

**Tranas J, Heinzen R, Weiss L, McAllister M. 1999.** Serological evidence of human infection with the Protozoan *Neospora caninum*. Clin Diagn Lab Immunol 6: 765-767.

**Trees AJ, Williams DJL. 2000.** Neosporosis in the United Kingdom. Int. J. Parasitol. 30: 891-893.

**Trees AJ, Williams DJ. 2005.** Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. Trends Parasitol 21: 558-561.

**Ugglå A, Stenlund S, Holmdahl OJM, Jakubek EB, Thebo P, Kindahl H, Björkman. 1998.** Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. Int J Parasitol 28:1467-1472.

**Vega, L. 2007.** Prevalencia de *Neospora caninum* en perros pastores de cinco sectores de las unidades de producción de la empresa Rural Alianza-Puno. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 54 p.

**Wapenaar W, Jenkins MC, O'Handley RM, Barkema HW. 2006.** *Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*). J Parasitol 92(6): 1270-1274.

**Williams JH, Espie I, van Wilpe E, Matthee A. 2002.** Neosporosis in a white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) calf. Tydskr S Afr Vet Ver 73: 38-43.

**Wolf D, Schares G, Cardenas O, Huanca W, Cordero A, Barwald A, Conraths FJ, Gauly M, Zahner H, Bauer C. 2005.** Detection of specific antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in naturally infected alpacas (*Lama pacos*), llamas (*Lama glama*) and vicunas (*Lama vicugna*) from Peru and Germany. *Vet Parasitol* 130: 81-87.

**Woods LW, Anderson ML, Swift PK, Sverlow KW. 1994.** Systemic neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*). *J Vet Diagn Invest* 6: 508-510.

**Wouda W, Dubey JP, Jenkins MC. 1997a.** Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. *J Parasitol* 83: 547-550.

**Wouda W, Moen AR, Visser IJR, van Knapen F. 1997b.** Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. *J Vet Diagn Invest* 9: 180-185.

**Wouda W, Moen AR, Schukken YH. 1998.** Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 49: 1311-1316.

**Wouda W, Dijkstra T, Kramer A, van Maanen C, Brinkhof J. 1999.** Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int J Parasitol* 29: 1677-1682.

**Yamane I, Kokuho T, Shimura K, Eto M, Shibahara T, Haritani M, Ouchi Y, Sverlow K, Conrad PA. 1997.** In vitro isolation and characterization of a bovine *Neospora* species in Japan. *Res Vet Sci* 63: 77-80.